

Meinen Eltern.

**Ergebnisse der Therapie von Basalzellkarzinomen
an der Klinik für Augenheilkunde des HELIOS Klinikums Erfurt**

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Luise Hahner
geboren am 22.04.1984 in Fulda

Gutachter:

1. Prof. Dr. Daniel Meller, Jena
2. Prof. Dr. Dr. Stefan Schultze-Mosgau, Jena
3. Prof. Dr. Marcus Blum, Erfurt

Tag der öffentlichen Verteidigung: 01. August 2017

Abkürzungsverzeichnis

ASMA	Alpha-Smooth-Muscle-Actin
BZK	Basalzellkarzinom
COX-2	Cyclooxygenase-2
E-Cad	E-Cadherin
ED-A	Fibronectin-Antikörper
EMT	Epitheliale-mesenchymale Transition
e.V.	Eingetragener Verein
ICD-10	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems
G2-M-Phase	Gap2-Phase der Interphase (Zellzyklus)
HE	Hämatoxylin-Eisen-Färbung
KFRG	Krebsfrüherkennungs- und –registergesetz
Ki-67	Kiel-67-Antigen
Min	Minuten
Mm	Millimeter
µm	Mikrometer
MMS	Mohs micrographic surgery
R0	Resektion des Tumors im Gesunden
R1	Resektion des Tumors mit mikroskopisch positivem Schnitttrand
R2	Resektion des Tumors mit makroskopisch positivem Schnitttrand
RT-PCR	Realtime Polymerase-Ketten-Reaktion

Abkürzungsverzeichnis

SD	Standardabweichung
SHH	Hedgehog-Signalweg
TNM	T=Tumor /N=Nodulus/ M= Metastase
UICC	Union International for Cancer Control
WHO	World Health Organization

Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung.....	1
2. Einleitung.....	3
2.1 Das Basalzellkarzinom	3
2.2 Epidemiologie.....	4
2.3 Morphologie.....	5
2.3.1 Noduläres (solides) Basalzellkarzinom	7
2.3.2 Superfiziellles Basalzellkarzinom.....	8
2.3.3 Infiltratives Basalzellkarzinom.....	9
2.3.4 Ulzeriertes Basalzellkarzinom.....	9
2.3.5 Basalzellkarzinom mit adnexaler Differenzierung	10
2.4 Ätiologie	12
2.5 Rezidive.....	13
2.6 Immunhistochemische Färbungen.....	14
2.6.1 α -Smooth-Muscle-Actin	14
2.6.2 Ki-67.....	14
2.6.3 Cyclooxygenase-2	15
2.6.4 ED-A Fibronectin.....	15
2.6.5 E-Cadherin.....	15
3. Zielsetzung der vorliegenden Arbeit.....	17
4. Methodik	18
4.1 Einbindung in das Tumorzentrum Erfurt e.V.....	18
4.2 Patientenkollektive.....	18
4.2.1 Gesamtkollektiv.....	18
4.2.2 Subkollektiv 1.....	18
4.2.3 Subkollektiv 2.....	19
4.3 Methoden	19
4.3.1 Datenerhebung	19
4.3.2 Untersuchungsmaterialien	20
4.3.3 Histopathologie	20
4.3.4 Immunhistochemie.....	21
4.3.4.1 Auswertung der immunhistochemischen Färbungen.....	22
4.3.4.2 Semiquantitative Bewertung der immunhistochemischen Färbungen	22
4.3.5 Therapie.....	23
4.3.6 Deckung.....	24

4.4 Statistik	26
5. Ergebnisse.....	27
5.1 Patientenbezogene Parameter	27
5.1.1 Geschlecht	27
5.1.2 Alter.....	27
5.2 Tumorbezogene Parameter	28
5.2.1 Lokalisation	28
5.2.2 Histologischer Subtyp	30
5.3 Tumorbezogene Parameter der Subkollektive	31
5.3.1 Größter Durchmesser	31
5.3.2 Invasionstiefe	32
5.3.3 Sicherheitsabstand	32
5.3.4 Immunhistochemie.....	34
5.3.4.1 ASMA.....	34
5.3.4.2 Ki-67.....	36
5.3.4.3 COX-2	37
5.3.4.4 ED-A Fibronectin.....	38
5.3.4.5 E-Cadherin.....	39
5.4 Therapiebezogene Parameter	40
5.4.1 Residualtumoren nach Erstexzision.....	40
5.4.2 Anzahl der Nachresektionen.....	42
5.4.3 Deckung.....	43
5.5 Rezidive und Zusammenhangsanalyse	44
5.5.1 Rate von Rezidiven und Non-Rezidiven und Beobachtungsdauer	44
5.5.2 Zusammenhangsanalyse Rezidive und patientenbezogene Parameter.....	46
5.5.2.1 Geschlecht	46
5.5.2.2 Alter.....	46
5.5.2.3 Multivariate Analyse	46
5.5.3 Zusammenhangsanalyse Rezidive und tumorbezogene Parameter	46
5.5.3.1. Lokalisation	46
5.5.3.2. Histologischer Subtyp	48
5.5.3.3. Multivariate Analyse	48
5.5.4 Zusammenhangsanalyse Rezidive und tumorbezogene Parameter der.....	
Subkollektive	48
5.5.4.1 Größter Durchmesser	48
5.5.4.2 Invasionstiefe	48
5.5.4.3 Sicherheitsabstand in die Tiefe und nach lateral	49
5.5.4.4 Immunhistochemie	49

5.5.5	Zusammenhangsanalyse Rezidive und therapiebezogene Parameter	52
5.5.5.1	Residualtumoren.....	52
5.5.5.2	Anzahl der Nachresektionen	52
5.5.5.3	Multivariate Analyse	52
5.5.6	Prognostische Parameter für eine Rezidiventwicklung.....	52
6.	Diskussion	54
6.1	Patientenbezogene Parameter	55
6.2	Tumorbezogene Parameter	56
6.3	Tumorbezogene Parameter der Subkollektive	58
6.4	Therapiebezogene Parameter	65
6.5	Prognostische Parameter	69
7.	Schlussfolgerungen	71
8.	Literatur-und Quellenverzeichnis	72
9.	Anhang.....	83
9.1	Danksagung.....	83
9.2	Ehrenwörtliche Erklärung	84

1. Zusammenfassung

Das Basalzellkarzinom ist die häufigste maligne nicht-melanocytäre Neoplasie der periorbitalen Region.

Epidemiologische Studien gestalten sich schwierig, bleiben doch Basalzellkarzinome in Krebsregistern oft unberücksichtigt, da sie in der Regel nicht metastasieren und nur selten Todesfälle verursachen. Mit Inkrafttreten des Krebsfrüherkennungs- und -registergesetzes (KFRG), welches im Februar 2013 mit dem Ziel einer einheitlichen Erfassung von Krebserkrankungen verabschiedet wurde, soll sich dies jedoch verbessern.

Neueste Erkenntnisse im Bereich der Molekulargenetik und der *Signaling pathways* bieten Anwendungsperspektiven in Diagnostik und Prognosen von Hauttumoren und können einen Beitrag zu den Therapiemöglichkeiten leisten. Diese Erkenntnisse tragen neben steigenden Inzidenzen und gesundheitsökonomischen Kosten zur Aktualität der Basalzellkarzinome bei.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, patienten-, tumor- und therapiebezogene Parameter von periorbitalen Basalzellkarzinomen in der Klinik für Augenheilkunde des HELIOS Klinikums Erfurt zwischen 2004-2013 durch eine retrospektive Analyse zu charakterisieren und mögliche prognostische Faktoren zu diskutieren.

Neben der Auswertung von Krankenakten für das Gesamtkollektiv erfolgte an einem Subkollektiv von 50 Patienten die histologische Untersuchung des lateralen und tiefen Sicherheitsabstandes, des Größten Durchmessers sowie der Invasionstiefe. Zusätzlich wurde an einem weiteren Subkollektiv von 20 Patienten eine immunhistochemische Expressionsanalyse verschiedener Antigene durchgeführt. Die Subkollektive wurden jeweils durch *Simple Random Sampling* gebildet.

Die Studie erfolgte an 241 Basalzellkarzinomen von 223 Patienten, bei denen es sich in 33 Fällen um Rezidivtumore handelte.

Durch den Altersdurchschnitt von 72 Jahren bestätigte sich das Basalzellkarzinom als in der Literatur beschriebene Erkrankung des höheren Lebensalters. Bezüglich

der Geschlechterverteilung ergab sich ein Verhältnis von Männern zu Frauen von 1:1,4.

Alle Basalzellkarzinome wurden chirurgisch therapiert. In 55,2% der Fälle erfolgten eine oder mehrere Nachresektionen, diese waren vor allem in den topografisch schwierigen Bereichen des nasalen Unterlides und nasalen Lidwinkels notwendig.

Die Defekte wurden am häufigsten durch einen primären Wundverschluss versorgt, bei den Transplantaten kamen vor allem die gestielten Transplantate zum Einsatz.

Die immunhistochemische Analyse musste aufgrund der geringen Fallzahl rein deskriptiv erfolgen und ergab eine numerische Relevanz zwischen aggressivem Verhalten und der Expression von ASMA, Ki-67 sowie ED-A Fibronectin. Der starke Verlust von E-Cadherin könnte ein Hinweis für eine spätere Rezidiventwicklung sein.

Das Auftreten von Rezidiven war mit der histologischen Diagnose einer R1-Resektion und der Durchführung von multiplen Nachresektionen korreliert.

Grundsätzlich ist die Rezidiventwicklung eines Basalzellkarzinoms jedoch von vielen tumor- und patientenbezogenen Faktoren abhängig und eine Prognose demnach nur begrenzt möglich.

Mit der empfohlenen Nachbeobachtungszeit von 5 Jahren und einer Anleitung der Patienten zur Selbstuntersuchung hat das Basalzellkarzinom eine gute Prognose.

2. Einleitung

2.1 Das Basalzellkarzinom

(Syn.: Basaliom, Epithelioma basocellulare, Basalzellenkrebs)

Das Basalzellkarzinom ist eine vor allem bei hellhäutigen Menschen auf lichtexponierten Hautarealen auftretende maligne epitheliale Neoplasie. Ihr Vorkommen ist auf haarfollikeltragende Körperregionen begrenzt. Gekennzeichnet durch ein zwar langsames, aber infiltratives und destruierendes Wachstum mit nur sehr geringer Metastasierungsrate, wurde das Basalzellkarzinom in der deutschsprachigen Literatur auch als semimaligner Tumor bezeichnet.

Erstmalig Erwähnung findet das Basalzellkarzinom 1827 bei Arthur Jacob, einem als Universalgenie geltenden Ophthalmologen und Pathologen aus Irland (Jacob 1827), dementsprechend ist es im angelsächsischen Sprachraum auch heute noch als „Jacob’s ulcer“ bekannt. Der ungarische Dermatologe Ludwig Nékám führte 1901 den Begriff „Basaliom“ ein (Nékám 1901). Mit der Bezeichnung „Basalzellenkrebs“ verdeutlichte zwei Jahre später der ebenfalls aus Ungarn stammende Pathologe Edmund Krompecher die Malignität des Tumors (Krompecher 1903). Trotz uneinheitlicher Nomenklatur hat sich heute im deutschsprachigen Raum weitestgehend der Ausdruck „Basalzellkarzinom“ durchgesetzt (Dissemond und Grabbe 2004) und wird infolgedessen auch in der vorliegenden Arbeit verwendet.

Entgegen seiner großen Prävalenz und zunehmenden Inzidenz ist die Histogenese des Basalzellkarzinoms immer noch nicht abschließend geklärt (Sellheyer 2011).

Der historisch bedingte Term des Basalzellkarzinoms ist lediglich in der Ähnlichkeit des Tumors mit der Basalzellschicht der interfollikulären Epidermis begründet, belegende Untersuchungen hierzu sind eingeschränkt (Sellheyer 2011). Mallory sah den Haarfollikel als histogenetischen Ursprung und bezeichnete den Tumor als „Haarmatrixtumor“ (Mallory 1910). Wie alle epithelialen Neoplasien exprimiert auch das Basalzellkarzinom Intermediärfilamente. Das Vorkommen der Zytokeratine 15 und 17 sowohl im Basalzellkarzinom als auch in der äußeren Haarscheide des Haarfollikels (Miller 1991) stützt so die Hypothese einer follikulären Genese.

Untersuchungen, die Stammzellen eine Rolle bei der Entwicklung des Basalzellkarzinoms zukommen lassen, werden kontrovers diskutiert. Nicht nur ihre

Identität sondern auch der Sitz der Stammzellen bleibt umstritten (Peterson et al. 2015). Im Bereich Haarfollikelbalges sitzen bipotente Stammzellen, die sich nicht nur zu Haarfollikeln sondern auch zu Zellen der Epidermis differenzieren können (Taylor et al. 2000). Epitheliale Stammzellen in der interfollikulären Epidermis dagegen besitzen nur ungenügendes Tumorpotential (Peterson et al. 2015).

Neuere Erkenntnisse in der molekulargenetischen Grundlagenforschung liefern Argumente für einen follikulären Ursprung (Sellheyer 2011). In Basalzellkarzinomen kommt es durch eine Mutation des PTCH1-Gens (67%) oder SMO-Gens (10%) zu einer aufgehobenen Inhibition und somit Überfunktion des Sonic-Hedgehog-Signaltransduktionswegs (Reifenberger et al. 2005). Dieser Signalweg spielt sowohl für die Haarfollikelentwicklung als auch für die Genese des Basalzellkarzinoms eine zentrale Rolle (Sellheyer 2011).

Einen weiteren Ursprung stellen epitheliale Mechanorezeptoren dar, indem sensorische Nerven in diesen den SHH-Signalweg aktivieren und die dort sitzenden Transkriptionsfaktor Gli-1 exprimierenden innervierten Progenitoren höchst tumorerzeugend sind (Petersen et al. 2015).

Der 1995 verliehene Nobelpreis für Medizin an Edward B. Lewis, Christiane Nüsslein-Volhard and Eric F. Wieschaus für ihre fundamentalen Erkenntnisse über die genetische Kontrolle der frühen Embryonalentwicklung legte den Grundstein für den heutigen Wissensstand in diesem Molekulargenetikbereich.

2.2 Epidemiologie

Das Basalzellkarzinom gehört per definitionem mit dem Plattenepithelkarzinom zu den nicht-melanocytären Hautkrebsarten. Mit einem Anteil von 30-40 Prozent aller Hautneoplasien ist es die am häufigsten auftretende Tumorentität des Menschen (Bordianu et al. 2013).

85% der Basalzellkarzinome sind im Kopf-Halsbereich und dort vor allem kraniofazial lokalisiert, wohingegen nur 15% an Rumpf und Extremitäten auftreten (Kopf 1979, McCormack et al. 1997). Im periorbitalen Bereich stellt das Basalzellkarzinom mit 90% die häufigste maligne Neoplasie dar (Gill et al. 2013).

Die Inzidenzrate variiert weltweit, so werden an Neuerkrankungen in den USA 300/100 000 Einwohner/Jahr, in Australien 1000/100 000 Einwohner/Jahr und in Deutschland etwa 170/100 000 Einwohner/Jahr beschrieben (Dissemond und

Grabbe 2004). Generell lässt sich eine Zunahme der Inzidenz beobachten, in Europa sind steigende Inzidenzraten von jährlich 7% für beide Geschlechter zu erwarten (Arits et al. 2011).

Beide Geschlechter entwickeln Basalzellkarzinome, Männer scheinen jedoch etwas häufiger betroffen (Roewert-Huber et al. 2007, Cigna et al. 2011, Hakverdi et al. 2011). Der Altersgipfel bei Diagnosestellung liegt bei durchschnittlich 60 Jahren (Hauschild et al. 2013). Auch wenn die Inzidenz mit dem Alter steigt und selten vor der vierten Lebensdekade auftritt (Carr et al. 2007), erkranken aktuell vermehrt jüngere Patienten unter 40 Jahren an Basalzellkarzinomen (Christenson et al. 2005).

2.3 Morphologie

Die Diagnosestellung des Basalzellkarzinoms erfolgt in der Regel nach klinischer Verdachtsdiagnose durch histologische Absicherung. Fallen den Patienten selbst im Anfangsstadium zunächst lediglich hagel- oder gerstenkornartige Läsionen auf, findet der behandelnde Augenarzt im periorbitalen Bereich eine wenige Millimeter bis Zentimeter durchmessende, leicht erhabene scharf begrenzte Papula mit perlschnurartigem Randsaum. Je nach Subtyp präsentiert sich diese in sehr unterschiedlichen Erscheinungsformen von perlmuttfarben, in der Mitte eingezogen bis teleangiektatisch auf intakter Oberfläche. Im fortgeschrittenen Stadium lässt sich als Malignitätszeichen neben Zilienverlust eine Wundheilungsstörung bis hin zum Ulkus finden.

Eine Pigmentierung ist selten und wird mit ungefähr 2% aller diagnostizierten Basalzellkarzinome angegeben (Rippey 1998). Sie kann in allen histologischen Subtypen vorkommen, allerdings sind die noduläre/micronoduläre (12,4%) und noduläre (7,7%) Form am häufigsten pigmentiert (Maloney et al. 1992). Im biologischen Verhalten zwischen pigmentierten und klinisch nichtpigmentierten Formen des Basalzellkarzinoms sind keine Unterschiede dokumentiert (Kirzhner und Jakobiec 2012).

Das Basalzellkarzinom lässt sich in nur wenige klinische Formen einteilen: nodulär, superfiziell und sklerodermiform (Morphea-Typ) (Carr et al. 2007). Da die klinische Einteilung allein keine Rückschlüsse auf das klinische Verhalten des Tumors erlaubt (Liersch und Schaller 2014) und für eine optimale Therapiefestlegung das architektonische Wachstumsverhalten eine wichtige Komponente ist (Crowson

2006), sollte immer eine Exzision des Tumors mit histologischer Aufarbeitung erfolgen. Neben der Diagnosesicherung erlaubt dies auch eine Untersuchung der Schnittländer auf Tumorfreiheit (Rene 2013).

In der Literatur lassen sich für eine Einteilung der Basalzellkarzinome zudem histologische Merkmale finden (Dissemond und Grabbe 2004). Auch wird zwischen einem aggressiven und non-aggressiven Wachstum unterschieden. Bei der Betrachtung der Aggressivität lässt sich feststellen, dass die noduläre und superfizielle Form zu den weniger aggressiven zählen (Walling et al. 2004, Kasper et al 2012, Welsch et al. 2012).

Die untenstehende Gliederung der histologischen Subtypen (Tab. 1) entspricht der WHO-Klassifikation von keratinozytischen (nicht-melanocytären) Hauttumoren (LeBoit et al. 2006). Mischformen finden sich des Öfteren (Dissemond und Grabbe 2004).

Tab. 1: Histologische Klassifikation des Basalzellkarzinoms der WHO (Übersetzung)

Superfizielles Basalzellkarzinom
Noduläres (solides) Basalzellkarzinom
Micronoduläres Basalzellkarzinom
Infiltratives Basalzellkarzinom
Fibroepitheliales Basalzellkarzinom
Basalzellkarzinom mit adnexaler Differenzierung
Basosquamöses Karzinom
Keratotisches Basalzellkarzinom

Die Ausführungen im Folgenden befassen sich mit den am häufigsten diagnostizierten Subtypen in der Klinik für Augenheilkunde des HELIOS Klinikums Erfurt in den Jahren 2004-2013. Da die verschiedenen histologischen Subtypen über spezifische klinische Korrelate verfügen (Crowson 2006), soll zunächst auf das klinische Erscheinungsbild der jeweiligen Subform eingegangen und dieses dann dem histopathologischen Bild (in der lichtmikroskopischen HE-Übersichtsfärbung) gegenübergestellt werden.

2.3.1 Noduläres (solides) Basalzellkarzinom

Die noduläre Form wird periorbital am häufigsten (65,7%) diagnostiziert (Wu et al. 2014). Klinisch erscheint dieser Tumor im Anfangsstadium als scharf und regelmäßig begrenzte perlmuttfarbene erhabene und kuppelartige Papula von derber Konsistenz und Teleangiektasien durchzogen (Abb.1). Während seines langsamen Wachstums bildet sich im weiteren Verlauf ein perlschnurartig aufgeworfener Randsaum mit zentraler Einsenkung, die exulzerieren kann (Gesztzi et al. 2013).



Abb. 1: Noduläres BZK

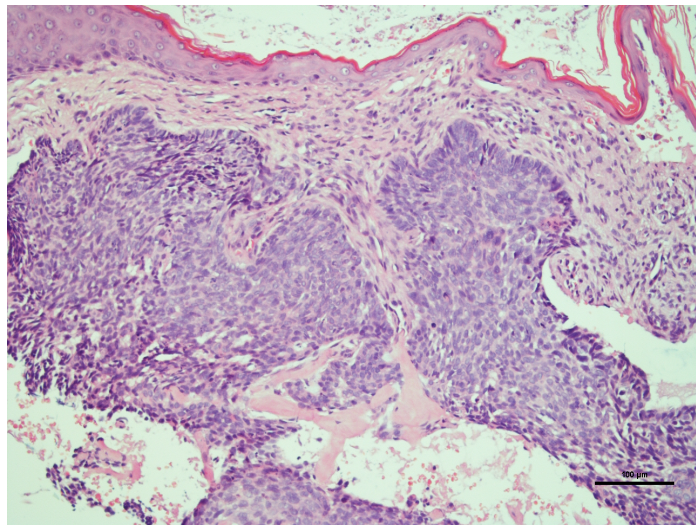


Abb. 2: Noduläres BZK (HE, 20x)

In der HE-Übersichtsfärbung findet sich im Randbereich des Tumors die für das Basalzellkarzinom typische palisadenförmige Anordnung der Zellen (Abb. 2). Die basophilen Zellkerne sind groß oval, monomorph hyperchromatisch und von einem schmalen eosinophilen Zytoplasmasaum umgeben (Boone et al. 2012). Die Kern-Plasma-Relation ist zugunsten des Kerns verschoben. Mitosefiguren und Zellnekrosen sind selten (Crowson 2006).

Die Tumorzellen sind von einem muzinösen Stroma umgeben, das vermehrt vaskularisiert und von überwiegend mononukleären Entzündungszellen infiltriert ist (Boone et al. 2012). Es ist selten fibrotisch, weist myxoide Veränderungen auf und kann kalzifiziert sein (Crowson 2006). Durch das fixationsbedingte Schrumpfen des Muzins (Meythaler 1973), kommt es zu einer diagnostisch wegweisenden Spaltbildung zwischen Tumorzellen und peritumoralem Stroma.

Die irregulären Nester, zu denen sich die Tumorzellen formieren, befinden sich entweder in der papillären oder retikulären Dermis (Crowson 2006). Es besteht ein

intermittierender Kontakt zur darüberliegenden Epidermis, die aktinische Veränderungen aufweist (Boone et al. 2012) und atrophisch oder ulzeriert sein kann (Meythaler 1973).

2.3.2 Superfizielles Basalzellkarzinom

Das superfizielle Basalzellkarzinom, auch multifokales Basalzellkarzinom oder Rumpfhautbasaliom genannt, präsentiert sich klinisch als Makula (Abb. 3) von rosa bis rotbrauner Farbe (Scalvenzi et al. 2008). Der ausgedehnte Rand kann atrophisch oder auch narbenähnlich erscheinen (Crowson 2006). Als Sekundäreffloreszenz weist es eine Schuppung auf und kann sowohl einzeln als auch multipel auftreten (McCormack et al. 1997). Dermatoskopisch finden sich glänzend weiße bis rote Regionen, feine kurze Teleangiektasien und multiple kleine oberflächliche Erosionen (Scalvenzi et al. 2008).



Abb. 3: Superfizielles BZK

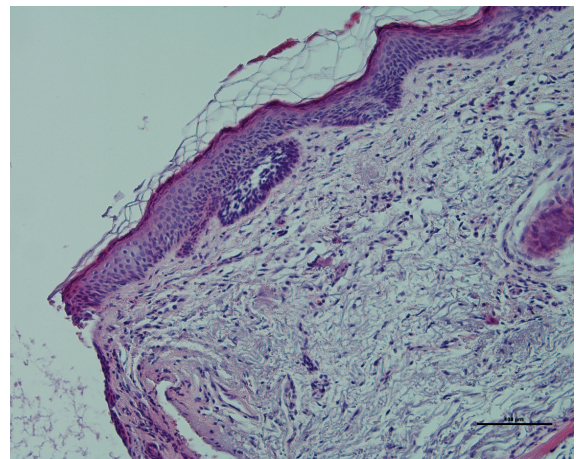


Abb. 4: Superfizielles BZK (HE, 20x)

Histologisch findet sich auch hier die typische palisadenartige Anordnung der Zellen (Abb. 4) im Tumorrandbereich (Boone et al. 2012). Die basophilen Zellkerne sind groß, langgestreckt und monomorph, die Kern-Plasma-Relation wieder zugunsten des Kerns verschoben. Mitosen und apoptotische Zellen sind selten (Crowson 2006). Eine peritumorale Mucinproduktion (Boone et al. 2012) kann im Spalt zwischen den Tumorzellen und peritumoralem Stroma als alzanblau-positives mesenchymales muzinöses Material nachgewiesen werden (Crowson 2006). Das peritumorale Stroma ist vorwiegend locker und myxoid, kapilläre Proliferationen sind häufig (Gesztz et al. 2013).

2.3.3 Infiltratives Basalzellkarzinom

Diese Tumorform zählt zu den aggressiven Wachstumsformen (Göppner und Leverkus 2011). Klinisch imponiert der Tumor als eine eingezogene oder leicht erhabene Makula von rosa bis rötlicher Farbe (Abb. 5) mit schuppiger Oberfläche und palpabel indurierten Rändern (Crowson 2006). Sein Aussehen erinnert an Vernarbungen (Gesztai et al. 2013). Insgesamt ist dieser Tumor schlecht umschrieben und kann sowohl die Subkutis als auch die angrenzende Muskularis infiltrieren, ein Risiko aber stellt vor allem die perineurale Infiltration dar (Crowson 2006).



Abb. 5: Infiltratives BZK

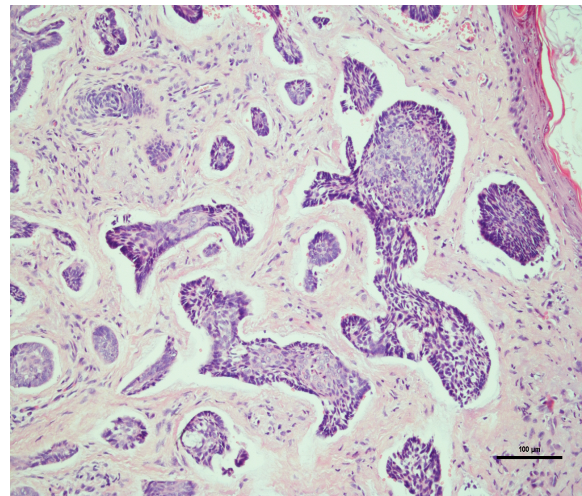


Abb. 6: Infiltratives BZK (HE, 20x)

Histopathologisch ist die typische Palisadenstellung schwach ausgeprägt oder fehlt ganz (Rippey 1998). Das Wachstumsmuster besteht aus Tumorzellnestern von unregelmäßiger Form und Größe (Crowson 2006), die ihm sein infiltratives Aussehen verleihen (Abb. 6). Die Zellkerne sind oval monomorph und die Kern-Plasma-Relation ist zugunsten des Kerns verschoben (Boone et al. 2012). Es finden sich häufig Mitosen und vereinzelt apoptotische Zellen (Crowson 2006). Das umgebende Stroma ist reichlich derb mit erhöhter Kollagendeposition (Gesztai et al. 2013).

2.3.4 Ulzeriertes Basalzellkarzinom

Es handelt sich hierbei um eine klinische Bezeichnung (Liersch und Schaller 2014) für das fortgeschrittene Stadium des Basalzellkarzinoms. Innerhalb dieser Gruppe unterscheidet man zwei Formen, das „nagende“ Ulcus rodens und das „bohrende“ Ulcus terebrans (Sonntag et al. 2004). Sie werden auch als destruierend wachsende Basalzellkarzinome bezeichnet. Oft ist die nicht heilende Wunde ohne einen

Verletzungshergang das Primärsymptom, welches den Patienten auffällt. Es kann zu lebensbedrohlichen Komplikationen wie Meningitis oder massiven Blutverlusten durch Gefäßarrosionen kommen (Buljan et al. 2008).

Das Ulcus rodens imponiert klinisch als unscharf und unregelmäßig begrenztes Ulcus. Mit seinem perlartigem Randwall und Teleangiektasien ähnelt es dem soliden Basalzellkarzinom und kann eine hämorrhagische Kruste aufweisen (Reifenberger und Ruzicka 2005). Sein Wachstum erfolgt horizontal (Buljan et al. 2008).

Das Ulcus terebrans präsentiert sich klinisch ebenfalls unscharf und unregelmäßig begrenzt. Es ist erythematös mit gelblich-blutenden Krusten (Sonntag et al. 2004). Die Oberfläche der Läsion erscheint rot, glasig und granulierend und die diskreten perlschnurartigen Randwälle sind nur noch gelegentlich zu finden (Reifenberger und Ruzicka 2005). Das Wachstum erfolgt hier vertikal mit schwerwiegender Zerstörung (Abb. 7) der Haut und tiefer liegender Gewebe wie Knorpel und Knochen (Buljan et al. 2008).

Da dieses Stadium als Spätbefund bei allen Subtypen (Liersch und Schaller 2014) auftreten kann, existieren keine generellen histologischen Merkmale. Besonders früh entwickelt es sich im nodulären Typ (Abb. 8) (Göppner und Leverkus 2011).

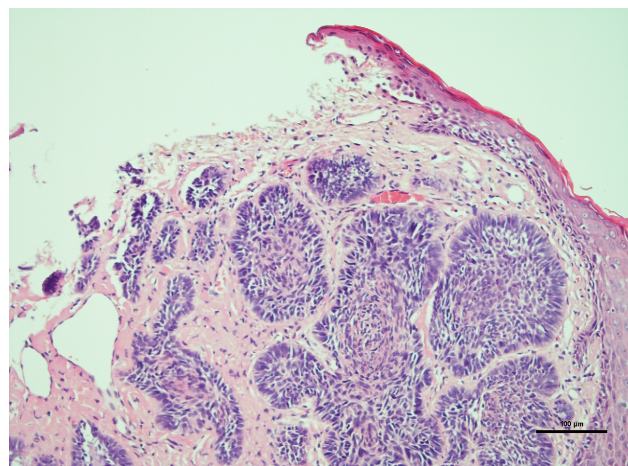
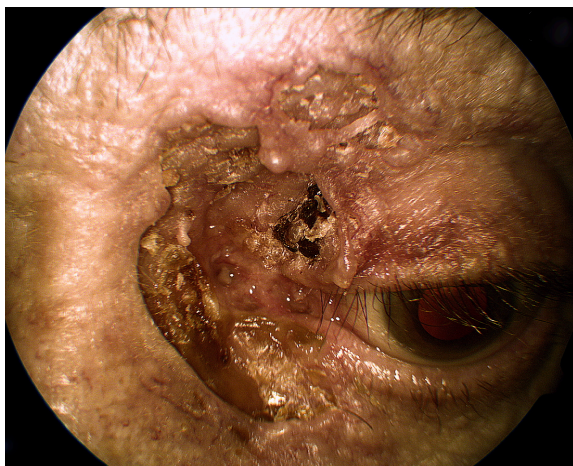


Abb. 7: Ulzeriertes BZK vom infiltrativen Typ Abb. 8: Ulzeriertes BZK (HE, 20x)

2.3.5 Basalzellkarzinom mit adnexaler Differenzierung

Die Namensgebung dieser Form des Basalzellkarzinoms beruht auf ihrer histologischen Ähnlichkeit mit den Adnexorganen der Haut. Man unterscheidet ekkrine und follikuläre Merkmale (Heenan et al. 2012). Ergänzend dazu findet sich

eine sebazeöse (Misago et al. 2004) und eine matrikale Differenzierung (Haskell et al. 2005).

Es sind keinerlei charakteristischen klinischen Merkmale für das Basalzellkarzinom mit adnexaler Differenzierung beschrieben (LeBoit et al. 2006), exemplarisch hierzu dient eine Abbildung dieses histologisch gesicherten Subtyps mit Zilienvverlust (Abb. 9).

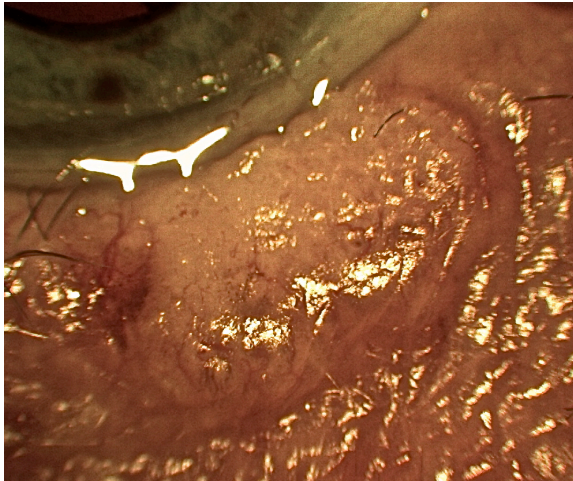


Abb. 9: BZK mit adnexaler Differenzierung

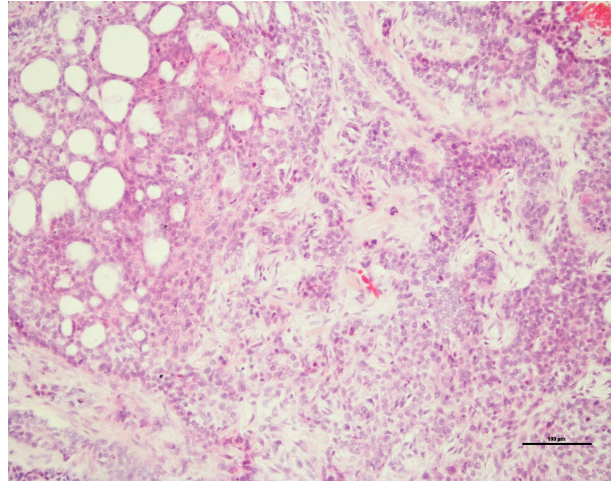


Abb. 10: BZK mit adnexaler Differenzierung (HE, 20x)

Histologisch liegen zu den basalzellkarzinomtypischen Merkmalen bei den verschiedenen Differenzierungen zusätzlich spezifische Merkmale vor. Allen Formen gemeinsam (Abb. 10) sind duktile, trichlemnale und sebazeöse Elemente (LeBoit et al. 2006).

Basalzellkarzinome mit ekkriner Differenzierung haben meist ein noduläres Muster und besitzen multiple duktusähnliche Strukturen, die mit Muzin gefüllt sein können (Heenan et al. 2012).

Die follikuläre Differenzierung besteht aus telogenen haarfollikelnähnelnden Basalzellnestern und kleinen keratinischen Zysten (Heenan et al. 2012).

Bei der sebazeösen Form finden sich vereinzelte vakuolisierte Zellen mit schaumigem Zytoplasma und leuchtenden Zellkernen, sowie kleine schmale duktusähnliche Strukturen (Misago et al. 2004).

Die matrikale Differenzierung weist häufig Mitosen auf und hat zahlreiche Windungen von sogenannten Schatten- oder Geisterzellen, verhornten Zellen mit deutlichen

Zellgrenzen und einer den untergehenden Zellkern markierenden zentralen Blässe (Haskell et al. 2005).

Fälle von Basalzellkarzinomen mit adnexaler Differenzierung sind jedoch insgesamt selten und dementsprechend wenig in der gegenwärtigen Literatur beschrieben.

2.4 Ätiologie

Im Gegensatz zu seiner umstrittenen Genese werden die Risikofaktoren des Basalzellkarzinoms weit weniger kontrovers diskutiert. Die häufige Form des Hautkrebses betrifft vor allem Kaukasier (Ho et al. 2013) und tritt vornehmlich an Stellen sonnenexponierter Haut auf (Carr et al. 2007). Sein Vorkommen beschränkt sich meist auf die behaarte Haut. An Hand- oder Fußflächen findet es sich eher selten (Kasper et al. 2012).

Zu den exogenen Faktoren zählen chronische Narbenreizung, Verbrennungsnarben, Strahlenhaut und chemische Einflüsse wie Arsen, die jedoch nur für den individuellen Fall bedeutend sind, da ihre statistische Signifikanz fehlt (Schubert 2000). Die UV-Strahlung, ganz gleich ob natürlich oder künstlich, gilt als einer der Hauptrisikofaktoren. Die UV-B-Strahlung scheint dabei eine größere Rolle als die UV-A-Strahlung zu spielen (Roewert-Huber et al. 2007). Entgegen der landläufigen Meinung besteht bei medikamentöser Immunsuppression nach Organtransplantation kein erhöhtes Risiko für die Entwicklung eines Basalzellkarzinoms (Tilli et al. 2004).

Als endogene Faktoren sind unterschiedliche phänotypische Charakteristika, durch welche die Sensibilität gegenüber der UV-Strahlung erhöht wird, von Bedeutung. So haben Rothaarige sowie Menschen mit blau/blau-grauer Augenfarbe ein erhöhtes Risiko ein Basalzellkarzinom zu entwickeln (Khalessi et al. 2013). Der Hauttyp 1 nach Fitzpatrick mit erhöhter Neigung zu Sonnenbrand und mangelnder Bräunungsfähigkeit stellt einen weiteren endogenen Risikofaktor dar (Lear et al. 1997). Eine genetische Prädisposition äußert sich in Genodermatosen wie dem Gorlin-Goltz-Syndrom, der Xeroderma pigmentosum, dem Bazex-Dupré-Christol-Syndrom oder dem sehr seltenen Rombo-Syndrom (Castori et al. 2011). Auch Melanin-Synthese-Störungen wie Albinismus führen zu einem erhöhten Risiko (Hauschild et al. 2013).

2.5 Rezidive

Aufgrund seiner geringen Metastasierungsrate von 0,0039 % bei Patienten mit und 0,0001% bei Patienten ohne primäres Basalzellkarzinom in der Anamnese (Nguyen-Nielsen et al. 2015) stellt das Rezidiv das klinische Hauptproblem des Basalzellkarzinoms dar (Teltzrow 2010). Innerhalb von fünf Jahren erkranken Patienten mit einem primären Basalzellkarzinom in schätzungsweise 40-50% der Fälle an einem oder mehreren weiteren Basalzelltumoren (Madan et al. 2010).

Die Genese eines Rezidivs ist multifaktoriell. Einen entscheidenden Einfluss hat die Wahl der Therapieform. Trotz zunehmender Popularität von nichtchirurgischen Therapien bleibt die chirurgische Exzision die wichtigste Behandlungsmethode von Hautkrebs im periokularen Bereich (Rene 2013).

Das Rezidivrisiko variiert dabei abhängig vom Exzisionsverfahren. Bei Vorliegen einer primären R0-Situation ist das Risiko eines Rezidivs minimal oder nicht existent (Sigurdsson und Agnarsson 1998). Eine Resektion mit mikroskopisch nachweisbaren Tumorzellen in den Schnitträndern weist hingegen eine durchschnittliche Rezidivrate von 27% auf (Gulleth et al. 2010). Durch anschließend durchgeführte Nachresektionen lässt sich das Rezidivrisiko trotzdem nicht auf die Rezidivrate von primär R0-resezierten Basalzellkarzinomen senken (Zimmermann und Klauß 2001).

Neben einer Resektion im Gesunden stehen sowohl die Größe des Tumors als auch die des Sicherheitsabstands in Abhängigkeit zur Rezidivhäufigkeit. Ein T2-Stadium rezidiert zweimal und ein T3-Stadium sogar dreimal so häufig wie ein T1-Stadium (Bogelund et al. 2007). Die Größe des zu wählenden Sicherheitsabstandes ist abhängig von der Tumorgöße und verhält sich umgekehrt proportional zum Rezidivrisiko (Gulleth et al. 2010). Sie muss aber nach sorgfältiger Abwägung dem Erhalt der Lidfunktion gegenübergestellt werden.

Ein weiterer Zusammenhang besteht für Rezidive und histologischen Subtyp (Cigna et al. 2011). Häufig ist das histomorphologische Wachstumsmuster eines rezidivierenden Basalzellkarzinoms aggressiv und weist im Narbengewebe tief reichende Tumorzellnester ohne Verbindung zur Epidermis auf (Carr et al. 2007, Welsch et al. 2012, Liersch und Schaller 2014). Den größten Anteil an Rezidiven haben die aggressiven Formen wie der morphea-inifiltrative Typ mit 63% im Vergleich zu den nicht-aggressiven Formen wie dem nodulären Typ mit 31,5% (Cigna et al. 2011).

Die Lokalisation des Basalzellkarzinoms ist ein weiterer Risikofaktor für ein Rezidiv, so wird der nasale Kanthus beispielsweise zu einem Hochrisiko-Bereich gezählt (Bartos et al 2011).

Grundsätzlich stellt ein rezidivierendes Basalzellkarzinom einen schlechten Prognosefaktor dar (Cigna et al. 2011).

2.6 Immunhistochemische Färbungen

Bei Krebserkrankungen besteht grundsätzlich ein großes Bedürfnis an verlässlichen prognostischen Bestimmungen. Immunhistochemische Analysen gewinnen hier zunehmend an Bedeutung, weil die zu untersuchenden Marker ein Ausdruck der Differenzierung, der Aggressivität und des lokalen Wachstumsverhalten des Tumors sind. So lässt sich zeigen, ob die jeweiligen Proteinexpressionen im Basalzellkarzinom mit histo- und klinischpathologischen Parametern korrelieren und sich im klinischen Alltag als Prognosemarker eignen.

2.6.1 α -Smooth-Muscle-Actin (ASMA)

ASMA ist ein Protein des Zytoskeletts, das mit der Zellkontraktion in Myofibroblasten in Zusammenhang gebracht wird (Hinz et al. 2001) und Umbauprozesse widerspiegelt.

In dem die malignen Zellen umgebenden Tumorstroma sitzt eine heterogene Gruppe von Zellen, unter denen Myofibroblasten die Tumorproliferation stimulieren (De Wever et al. 2008).

Die Expression von ASMA ist mit einer schlechten Prognose für verschiedene Tumoren assoziiert, so beispielsweise bei kolorektalen Karzinomen (Tsujino et al. 2007), beim invasiven duktalem Mammakarzinom (Yamashita et al. 2012) oder bei Oralkarzinomen (Marsh et al. 2011).

Bei Basalzellkarzinomen kann eine ASMA-Positivität als ein früher diagnostischer Marker für potentiell aggressives Verhalten betrachtet werden (Pilloni et al. 2009).

2.6.2 Ki-67

Ki-67 ist ein Histon-Protein, das während der Zellteilung unterschiedlich hoch exprimiert wird und sein Maximum in der G2M-Phase erreicht (Sasaki et al. 1987). Da es nur in teilungsaktiven Zellen vorkommt, ist es ein guter Proliferationsmarker für Tumoren.

Am besten untersucht ist Ki-67 für das Mamma- und Prostatakarzinom, es erlaubt eine Überlebensprognose sowie für eine Rezidiventwicklung (Scholzen und Gerdes 2000).

Bei Basalzellkarzinomen besteht ein signifikanter Unterschied in der Expression des Ki-67 Antigens zwischen später nicht rezidivierenden und rezidivierenden Tumoren (Healy et al. 1995).

2.6.3 Cyclooxygenase-2 (COX-2)

Die Cyclooxygenase-2 katalysiert als Schlüsselenzym zusammen mit der Cyclooxygenase-1 die Umwandlung von Arachidonsäure zu Prostaglandinen.

Beim Mammakarzinom (Urban et al. 2014), Harnblasen-Karzinom (Shirahama 2000) und im frühen Stadium des nicht-kleinzelligen Lungenkarzinoms (Zhan et al. 2013) haben Tumoren mit einer Überexpression von COX-2 eine schlechtere Prognose.

Beim Basalzellkarzinom kann eine hohe COX-2-Expression ebenfalls als ein Risikofaktor für eine Rezidiventwicklung betrachtet werden (El-Khalawany und Abou-Bakr 2013).

2.6.4 ED-A Fibronectin

Fibronectin ist ein ubiquitäres Glycoprotein der extrazellulären Matrix und dient als Adhäsionsmolekül. In seinen zwei Hauptformen kommt es sowohl extrazellulär im Plasma als auch intrazellulär vor und induziert mit seiner als ED-A (Extra-Domain-A) bezeichneten intrazellulären Splicingvariante die Fibroblastendifferenzierung (Kohan et al. 2010). Da in Tumorzellen das ED-A Segment im Vergleich zu normalen Fibroblasten 10fach erhöht exprimiert ist (Bursi et al. 1987), stellt es einen Marker für maligne Prozesse dar.

Die erhöhte Fibrinexpression ist mit einer schlechten Prognose für Mammakarzinome (Fernandez-Garcia et al. 2014), Tumoren der Kopf- Hals-Region (Nishioka et al. 1993) und dem klarzelligen Nierenkarzinom (Steffens et al. 2012) assoziiert.

Bei Basalzellkarzinomen korreliert eine erhöhte Fibrinexpression im Tumorstroma mit dem Auftreten von Rezidiven (Marasa et al. 2008).

2.6.5 E-Cadherin (Epithelial Cadherin)

Cadherine sind kalziumabhängige transmembranale Glykoproteine, welche die Zelladhäsion vermitteln (Tsukita 1993). Tumorzellen können diese lösen und erhalten so die Fähigkeit zum invasiven Wachstum oder zur Metastasenbildung. Der Verlust

von E-Cadherin steht mit dem Differenzierungsverlust sowie der Invasion epithelialer Tumore in Zusammenhang (Schipper et al. 1991).

Eine verminderte Expression von E-Cadherin eignet sich als prognostischer Marker bei Patienten mit Magenkarzinomen (Chan et al. 2001), kolorektalen (Dorudi et al. 1995), Brust- (Jeschke et al. 2007) und Plattenepithelkarzinomen (Schipper et al. 1991).

Bei Basalzellkarzinomen ist der Verlust von E-Cadherin mit dem Auftreten von Rezidiven und dem sklerodermiformen Subtyp (Vanjaka-Rogosic et al. 2014) assoziiert.

3. Zielsetzung der vorliegenden Arbeit

In unserer Gesellschaft stellt das Basalzellkarzinom als häufigste Tumorentität mit stetig steigender Inzidenz ein zunehmendes medizinökonomisches Problem dar. Das Lebenszeitrisko für Kaukasier an einem Basalzellkarzinom zu erkranken beträgt 23 bis 39 Prozent (Miller, 1994). Vor allem das Rezidiv ist eine gravierende Komplikation im biologischen Verhalten des Basalzellkarzinoms und macht eine Nachsorge essentiell. Mit der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, welche Faktoren das Rezidivverhalten von chirurgisch therapierten Basalzellkarzinomen in der periorbitalen Region beeinflussen, um Behandlungsstrategien optimieren zu können. Hierfür wurden anhand von 223 Patienten, die im Zeitraum vom 1. Januar 2004 bis zum 31. Dezember 2013 in der Klinik für Augenheilkunde des HELIOS Klinikums Erfurt mit einem histologisch gesicherten Basalzellkarzinom diagnostiziert wurden, ein Datensatz generiert. Die so erhobenen Daten wurden analysiert und anschließend mit der aktuellen Forschung verglichen und diskutiert. Eine detaillierte Untersuchung erfolgte anhand folgender Fragen:

1. Besteht ein Zusammenhang zwischen Rezidivhäufigkeit und Geschlecht, Alter und Lokalisation?
2. Hat eine in-sano-Resektion einen Vorteil gegenüber multiplen Nachresektionen in Bezug auf Rezidive?
3. Rezidiert ein bestimmter histologischer Subtyp häufiger als andere?
4. Welchen Einfluss haben der größte Durchmesser, die Invasionstiefe und der minimale Sicherheitsabstand auf die Entstehung eines Rezidivs?
5. Erweist sich in der immunhistochemischen Expressionsanalyse einer der Antikörper gegen ASMA, ED-A Fibronectin, E-Cadherin, Ki-67 oder COX-2 als effektiver prognostischer Faktor?

4. Methodik

4.1 Einbindung in das Tumorzentrum Erfurt e.V.

Das Tumorzentrum Erfurt e.V. ist das klinische Krebsregister Thüringens. Neben epidemiologischen Kenngrößen werden dort auch klinische Parameter erfasst. Ein wichtiges Ziel stellt die möglichst vollständige Erfassung aller Tumorerkrankungen in Thüringen dar, um durch die klinische und wissenschaftliche Nutzung der erhobenen Daten Therapie- und Diagnostikstandards zu evaluieren. Die Datenerhebung erfolgt auf Basis der histopathologischen Befunde der Pathologischen Institute im Einzugsgebiet. Dementsprechend erfolgte eine Meldung aller Daten der Tumordokumentation der in der Klinik für Augenheilkunde des HELIOS Klinikums Erfurt diagnostizierten Basalzellkarzinome an das Tumorzentrum Erfurt e.V.

4.2 Patientenkollektive

4.2.1 Gesamtkollektiv

Für die vorliegende Arbeit wurde retrospektiv ein Patientenkollektiv betrachtet, das im Zeitraum vom 01. Januar 2004 bis 31. Dezember 2013 in der Klinik für Augenheilkunde des HELIOS Klinikums Erfurt chirurgisch behandelt und bei dem histologisch die Diagnose Basalzellkarzinom ICD-10 C:44.1 (Sonstige bösartige Neubildungen: Haut des Augenlides, einschließlich Kanthus) im periorbitalen Bereich durch das Institut für Pathologie des HELIOS Klinikums Erfurt gestellt wurde. Anhand von histopathologischen Berichten, Operationsberichten und Krankenakten wurden insgesamt 223 Patienten mit 241 Basalzellkarzinomen erfasst und so ein Datensatz generiert, an dem die Merkmalsausprägungen verschiedener Variablen untersucht wurden.

4.2.2 Subkollektiv 1

In einem durch *Simple Random Sampling* gebildeten Subkollektiv, bestehend aus 50 Patienten des Gesamtkollektivs, wurden zusätzlich die histologischen Parameter „Größter Durchmesser“, „Sicherheitsabstand in die Tiefe“ und „nach lateral“, sowie die „Invasionstiefe“ erhoben. Für das *Simple Random Sampling* wurde durch das Programm SPSS eine Zufallsstichprobe aus einer Datendatei gezogen.

4.2.3 Subkollektiv 2

Für das Anfertigen von immunhistochemischen Färbungen gegen ED-A, ESMA, E-Cadherin, Cox-2 und Ki-67 wurde ebenfalls durch *Simple Random Sampling* ein weiteres Subkollektiv von 20 Patienten aus dem Subkollektiv 1 gebildet. Dabei wurde das Untersuchungsmaterial von 10 Rezidivpatienten und 10 Patienten, bei denen im Zeitraum der Datenerhebung Rezidivfreiheit bestand, mit Antikörpern gefärbt. Die Färbungen wurden nur an Primärtumoren durchgeführt.

4.3 Methoden

4.3.1 Datenerhebung

Für das Gesamtkollektiv wurden zunächst patientenbezogene Daten erfasst, die neben Name, Geschlecht und Geburtsdatum auch das jeweilige Alter der Patienten zum Zeitpunkt der OP beinhalteten.

In Bezug auf tumorspezifische Parameter wurden die Lokalisation, der histologische Subtyp als Enddiagnose und der Tumor-Histologie-Schlüssel festgehalten. Die Tumorlokalisation wurde wie folgt dokumentiert: Ober- und Unterlid wurden anhand des Limbus in horizontal und nasal, mittig und temporal, sowie nasaler und temporaler Lidwinkel unterteilt (Abb. 11). Zusätzlich wurde zwischen rechtem und linkem Auge unterschieden.

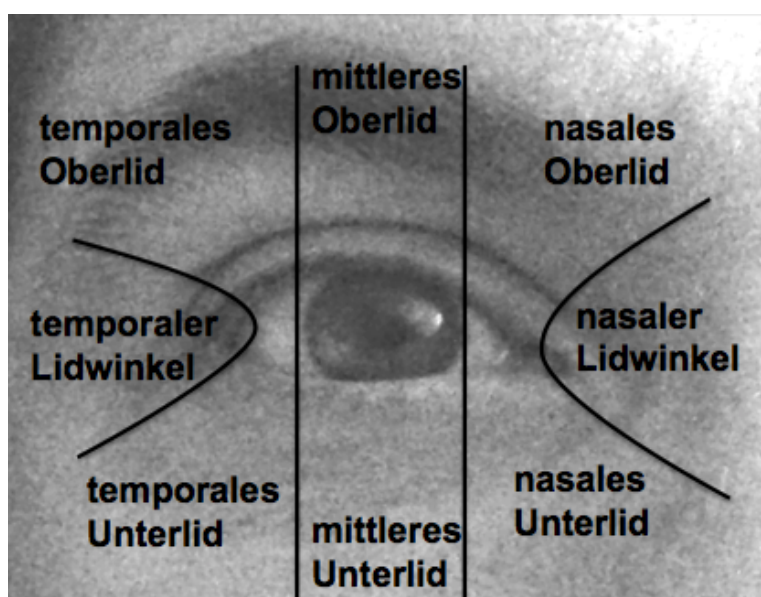


Abb. 11: Periorbitale Lokalisationen des BZK

Der histologische Subtyp, der Tumor-Histologie-Schlüssel und die immunhistochemischen Analysen wurden durch das Institut für Pathologie des HELIOS Klinikums Erfurt bestimmt.

Unter therapeutischen Maßnahmen wurden Art der Resektion, Anzahl eventueller Nachresektionen, sowie das Verfahren der plastischen Deckung erfasst.

Im weiteren postoperativen Verlauf wurden Lokalrezidive oder neu aufgetretene Basalzellkarzinome ermittelt, zusätzlich wurden vorliegende frühere histologische Befunde dokumentiert.

4.3.2 Untersuchungsmaterialien

223 Patienten wurden einer mehrzeitigen Operation zugeführt, so dass anschließend im Exzizat die Diagnose Basalzellkarzinom histologisch im Paraffinschnittverfahren gesichert werden konnte.

4.3.3 Histopathologie

Das intraoperativ entnommene Tumorgewebe wurde im Paraffinschnittverfahren in stufenweiser Brotlaibtechnik vollständig aufgearbeitet und in der HE-Übersichtsfärbung befundet. Das Gewebe wird dabei nach 24-stündiger Fixation in Formalin 5 % in Paraffin (Histosec-Pastillen 56-58C, Merck, Deutschland) gegossen und in einem Automaten (Hypercentre, Shandon, Deutschland) eingebettet. Mit einem Mikrotom (Rotationsmikrotom RM2045, Leica, Deutschland) werden aus den Paraffinblöcken ca. 4µm dicke Schnitte gefertigt. Auf Objektträger gezogen trocknen diese im Brutschrank (Medax, Deutschland) für 30 Minuten bei einer Temperatur von 60 °C. Die Schnitte werden in einer auf- und absteigenden Alkoholreihe als vorbereitendem Schritt der Färbung entparaffiniert:

1. Xylol 3x 15 min
2. Aceton 4x 2 min
3. Aceton/ Aqua destillata (2:1) 2 min
4. Aqua destillata/ Aceton (2:1) 2 min
5. Spülen in Aqua destillata

Im Anschluss erfolgt die Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung), in der das azidophile Zytoplasma zu einer roten und die basophilen Zellkerne zu einer

blauvioletten Darstellung kommen. Dafür werden die Präparate zunächst für 20 Minuten in saurem Hämalun nach Mayer inkubiert, in aqua destillata gespült und für 10 Minuten unter fließendem Leitungswasser gebläut (gespült). Es folgt eine dreiminütige Färbung in alkoholischer Eosin-Y-Lösung (Sigma-Aldrich, Deutschland) mit darauffolgender Spülung in Ethanol 70% für 2x 1-5 min und Xylol-Inkubation. Der Gewebeeinschluss in Neutralbalsam „H“ (Dr. Hollborn & Söhne GmbH & Co KG, Leipzig, Deutschland) bildet den Abschluss der Fixation.

Die Einteilung des histologischen Typs (Tab. 2) erfolgte in Anlehnung an die internationale Klassifikation der WHO entsprechend der im Einleitungskapitel aufgeführten Tabelle (Tab. 1) in 8 Subtypen.

Tab. 2: Histologische Subtypen der diagnostizierten Basalzellkarzinome

Noduläres Basalzellkarzinom
Infiltratives Basalzellkarzinom
Ulzeriertes Basalzellkarzinom
Basalzellkarzinom mit adnexaler Differenzierung
Superfizielles Basalzellkarzinom
Basosquamöses Basalzellkarzinom
Sklerodermiformes Basalzellkarzinom
Pigmentiertes Basalzellkarzinom

Die Schnittränder des Gewebes wurden auf Tumorfreiheit geprüft und nach der R-Klassifikation mit R0: Resektion im Gesunden, R1: mikroskopische Resttumorformation im Resektatrand und R2: makroskopischer Residualtumor eingeteilt.

4.3.4 Immunhistochemie

Für die immunhistochemische Analyse wurde dasselbe Untersuchungsmaterial wie für die histopathologischen Untersuchungen verwendet. Die angewandte Methode erfolgte nach einem standardisierten Verfahren an in Paraffin eingebetteten Schnitten, das bezogen auf die Antikörper variierte (Tab. 3).

Tab. 3: Verwendete primäre Antikörper zur Färbung der Markerproteine

Antigene	Epitop/ Marker	Antikörper -Klon	Verdünnung	Quelle
ASMA	Muskelaktin, Myofibroblasten	1A4	Ready-To- Use	Roche
Ki-67	Proliferationsfaktor	30-9	Ready-To- Use	Roche
COX-2	Stressprotein	SP21	Ready-To- Use	Roche
ED-A	Fibronectin	IST-9	1:20	Prof. Luciano Zardi, Universität Genua (Gabe an das Institut für Pathologie HELIOS Klinikum Erfurt)
E-Cad	Zelladhäsion	EP700Y	Ready-To- Use	Roche

4.3.4.1 Auswertung der immunhistochemischen Färbungen

Die Befunde wurden mittels Lichtmikroskop (BX51, OLYMPUS, Japan) nach dem Prinzip der Markierung bzw. Nichtmarkierung der Reaktion ausgewertet.

Die subjektive Einschätzung erfolgte anhand des Verhältnisses von spezifisch gefärbten Arealen zu nicht reaktiven ungefärbten Arealen.

4.3.4.2 Semiquantitative Bewertung der immunhistochemischen Färbungen

Die folgende Tabelle (Tab. 4) zeigt ein dreistufiges Score-System für die Expressionsintensität der einzelnen Antigene, nach welchem die immunhistochemisch gefärbten Präparate semiquantitativ ausgewertet wurden.

Tab. 4: Score-Einteilung der Expressionsaktivität

Antigen	Score	Marker-positive Strukturen
ASMA	+	keine bis einzelne Myofibroblasten bei systematischer Suche
	++	einzelne Myofibroblasten, wenige kleine Gruppen
	+++	Gruppen von Myofibroblasten bis große konfluierende Gruppen
Ki-67	+	<1% Zellen
	++	2-5% Zellen
	+++	<5% Zellen
COX-2	+	kleine wenige Zellgruppen
	++	konfluierende kleine Zellgruppen
	+++	große zusammenhängende Epithelkomplexe
ED-A	+	keine bis vereinzelte Spots
	++	geringe diffuse Färbung und kleine einzelne Spots
	+++	gut sichtbare Strommarkierung
E-Cad	-	kein oder nur sehr kleinherdiger Verlust
	- -	kleinherdiger Verlust
	- - -	großherdiger Verlust

4.3.5 Therapie

Unbehandelt kann das Basalzellkarzinom vor allem im Gesicht ausgedehnte Gewebedestruktionen verursachen (Gulleth et al. 2010).

Basalzellkarzinome können im Allgemeinen exzidiert oder konservativ bestrahlt, einer photodynamischen oder immunologischen Therapie zugeführt oder durch alternative Therapiemethoden wie beispielsweise Kryo- oder Lasertherapie behandelt werden (Dissemond und Grabbe 2004).

Die hier angewandte chirurgische Entfernung mit histologischer Schnittrandkontrolle stellt den grundsätzlichen Goldstandard bei Malignitätsverdacht von Hautneoplasien dar, im periorbitalen Bereich als problematische Lokalisation ist dieses Vorgehen leitliniengerecht (Hauschild et al. 2013). Im Gegensatz zu den konservativen

Therapieverfahren wird durch die Exzision eine histologische Absicherung der Diagnose erzielt und mit gleichzeitiger Beurteilung der Resektatränder die Vollständigkeit der Tumorsektion überprüft (Rene 2013). Zusätzlich kann so auch eine plastische Wiederherstellung des Defekts erreicht werden (Schubert 2000).

Ein Befall der periorbitalen Region stellt eine besondere Situation dar und sollte unter speziellen Aspekten betrachtet werden. Die anatomische und physiologische Situation am Lid ist komplex (Esser und Konen 2001), bei Operationen besteht ein schmaler Grat zwischen dem nötigen zu wahrenden Sicherheitsabstand und dem funktionellen Verlust des Augenlids sowie der okulären Adnexe.

In der optimalen Planung des operativen Vorgehens, bei dem zwischen ein- und zweizeitigen und dem einfachen lidkantenparallelen Abtragen unterschieden wird, finden Lokalisation, Ausdehnung und klinische Dignität Berücksichtigung (Sommer 2008). Ziel des Operators sollte die Resektion des Tumors im Gesunden bei minimalem Substanzverlust mit maximalem Funktionserhalt unter gleichzeitiger Berücksichtigung der Ästhetik sein.

Da andere Therapieprinzipien wegen der fehlenden histologischen Kontrolle Ausnahmeindikationen, beispielsweise für oberflächliche Lidtumoren bei älteren Patienten, sein sollten (Teltzrow 2010), wird in der vorliegenden Arbeit nicht weiter auf diese eingegangen.

4.3.6 Deckung

Die Exzision führt zu einem Weichteildefekt, für dessen Deckung je nach Größe und Tiefenausdehnung unterschiedliche operative Lösungen zur Verfügung stehen. In der Klinik für Augenheilkunde des HELIOS Klinikums Erfurt kamen die im Folgenden aufgeführten Deckungstechniken zur Anwendung.

Während kleinere Defekte der Sekundärheilung als Laissez-Faire oder dem primären Wundverschluss zugeführt werden können, kommen bei größeren Defekten Vollhauttransplantationen oder Lappenplastiken zum Einsatz.

Am Augenlid wird prinzipiell zwischen einer vorderen Lamelle, bestehend aus Haut und Musculus orbicularis oculi, sowie einer hinteren Lamelle, bestehend aus Tarsus und Konjunktiva, unterschieden (Rene 2013). Dementsprechend lässt sich die Defektdeckung nach Art des Lamellenersatzes einteilen.

Eine andere Einteilung erfolgt anhand der Art der Transplantatgewinnung in freie oder gestielte Transplantate.

Zur Deckung kleinerer Defekte eignen sich freie Transplante (Sommer 2008). Häufig kommt es dabei jedoch zu Einschmelzungen im Transplantat, die eine Reoperation notwendig werden lassen (Beyer-Machule 1991). Lappenplastiken kommen dementsprechend bei größeren Defekten zum Einsatz und bieten gegenüber den freien Transplantaten viele Vorteile: sie besitzen eine eigene Blutversorgung, haben eine geringere Schrumpfungstendenz, stimmen in Farbe und Textur mit dem Ort des Defekts überein und Entnahmedefekte können vermieden werden (Rene 2013). Unter dem weiteren Gesichtspunkt der Gewebeübertragung kann zwischen Transpositions-, Rotations- und Verschiebeplastiken unterschieden werden.

Transpositionsplastiken werden in der Literatur auch als Schwenklappen bezeichnet. Der Glabellaschwenklappen wird zur Rekonstruktion der vorderen Lamelle des Ober- und Unterlids im Bereich des nasalen Lidwinkels genutzt, bei alleinigem Befall des Unterlids eignet sich ein nasolabialer Schwenklappen (Sommer 2008).

Die Rotationsplastik nach Mustardé kann bei großen durchgreifenden Liddefekten angewendet werden. In einer zweizeitigen Operation wird zunächst ein Lappen aus dem Spenderlid bis auf einen gefäßführenden Lidrandstiel in ganzer Dicke umschnitten und um 180 Grad in den Defekt des ipsilateralen Lides eingeschwenkt (Hübner 2014), in einer Folgeoperation wird die Lidspalte nach einer Mindestdauer von 3-4 Wochen wieder eröffnet (Gonnermann et al. 2014).

Bei einem Totalverlust des Unterlides dient als vordere Schicht des neuen Lides ein Drehlappen aus der Wangenregion und als hintere Schicht ein Nasenseptumtransplantat (Beyer-Machule 1991), häufiger ist jedoch der Ersatz aus Ohrknorpel.

Unter den Verschiebelappen ist die Methode nach Hughes eine der bekanntesten Plastiken und dient dem Verschluss von marginalen Unterliddefekten (Hübner 2014). Bei dieser zweizeitigen Unterlidrekonstruktion wird ein gestielter tarsokonjunktivaler Lappen aus dem ipsilateralen Oberlid als hintere Lamelle gewonnen und in den Unterliddefekt geschoben (Sommer 2008). Die anteriore Lamelle wird aus einem Verschiebelappen oder einem freien Transplantat gebildet. (Hübner 2014). Auch bei dieser Methode ist ein Verschluss des Auges notwendig und die Wiedereröffnung der Lidspalte erfolgt in einer zweiten Operation nach 6-8 Wochen (Meyer-Bachule 1991). Unter einer Schornsteinplastik oder auch U-Plastik nach Szymanowski versteht man eine seitliche Verschiebeplastik, die bei runden oder ovalen Defekten Anwendung

findet und bei welcher ein Lappen parallel zu seiner Basis in den Defekt hineingeschoben wird (Petres und Rompel 2008).

4.4 Statistik

Für die Erstellung des Datensatzes sowie der Diagramme wurde das Programm Microsoft Excel 2008 für Mac, Version 12.0 verwendet. Die statistische Analyse wurde mit dem Programm SPSS für Windows, Version 22 durchgeführt.

Durch Bearbeitung der Studiendaten lagen ausschließlich nominal- und ordinal-skalierte Daten vor.

Innerhalb der deskriptiven Statistik kamen univariate, bivariate und multivariate Verfahren zur Anwendung.

Während univariate Verfahren bei eindimensionalen Häufigkeitsverteilungen die jeweiligen Merkmalsausprägungen auf die Gesamtheit der Studienpopulation ausdrücken, können durch bivariate Verfahren mit Hilfe von Kreuztabellen und Korrelationsanalysen eventuell bestehende Zusammenhänge zwischen zwei Variablen untersucht werden. Die skalierte Variate wurde durch den Mittelwert und die Standard(SD)-Abweichung beschrieben, wobei die Angabe der nominalen Häufigkeiten mit absoluter Zahl oder in Prozent erfolgte.

Zur Überprüfung der statistischen Abhängigkeiten auf Signifikanz wurden der Chi-Quadrat-Test und der t-Test bei unabhängigen Variablen eingesetzt.

Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p \leq 0,05$ wurde als statisch signifikant gewertet, ein p-Wert zwischen 0,05 und 0,1 beschrieb eine schwache Signifikanz.

Multivariate Analysen untersuchen die Zusammenhänge von mehr als zwei Variablen zueinander und wurden hier mit Hilfe der Cox-Regression durchgeführt. Zur Überprüfung der Abhängigkeit einer dichotomen Variablen fand die binäre logistische Regression Anwendung.

Die Bestimmung der rezidivfreien Zeit wurde nach der Kaplan-Meier-Methode vorgenommen.

Aufgrund der geringen Fallzahl erfolgte die Analyse des Subkollektivs 2 rein deskriptiv.

5. Ergebnisse

5.1 Patientenbezogene Parameter

5.1.1 Geschlecht

Bei der Häufigkeitsverteilung bezüglich des Geschlechts wurde im Gesamtkollektiv bei Frauen in 58,5% (n=141) und bei Männern in 41,5% (n=100) der Fälle ein Basalzellkarzinom im periorbitalen Bereich diagnostiziert, Frauen sind in dieser Untersuchung häufiger als Männer betroffen.

5.1.2 Alter

Das Durchschnittsalter der Patienten des Gesamtkollektivs zum Zeitpunkt der OP lag bei 72 Jahren (Median 74,02 Jahren). Das Alter des jüngsten Patienten betrug dabei 26 Jahre, das des ältesten 95 Jahre.

Unterteilt nach Altersgruppen waren Patienten in der 8. Lebensdekade (n=99) am häufigsten betroffen. Bei der Betrachtung nach Geschlecht (Abb. 12) überwiegt der Anteil erkrankter Frauen (n=57) in dieser Lebensdekade gegenüber erkrankten Männern (n=42). Männer (n=25) erkrankten in der 7. Lebensdekade häufiger als Frauen (n=17).

Insgesamt waren 1,2% (n= 3) jünger als 40 Jahre. Dabei handelte es sich in 75% der Fälle um Frauen (n=2) und in 25% (n=1) um Männer.

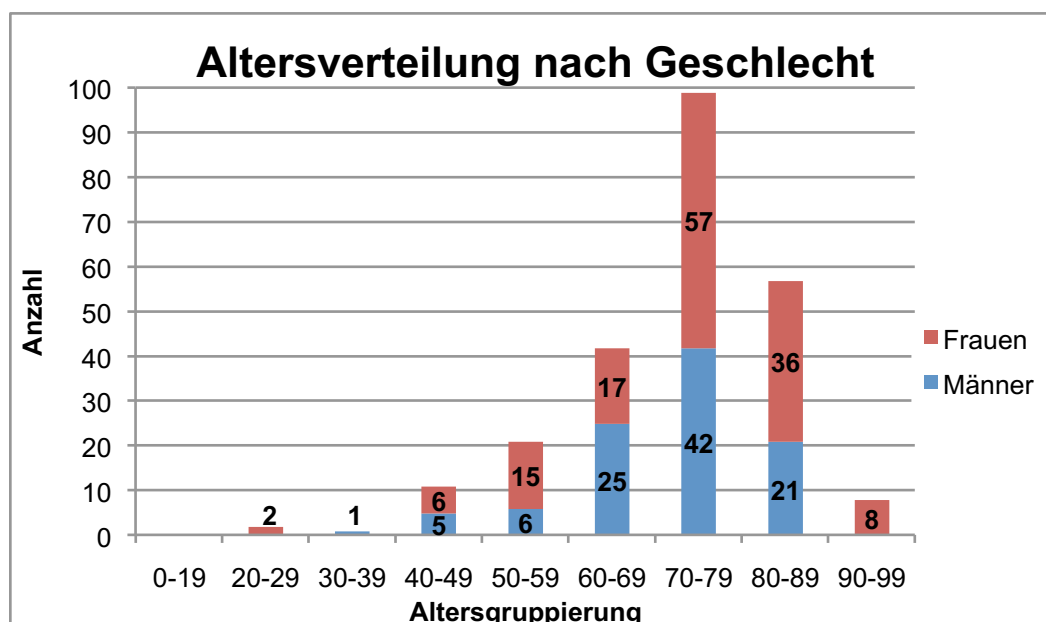


Abb. 12: Altersverteilung zum Zeitpunkt der OP nach Geschlecht (n=241)

5.2 Tumorbezogene Parameter

5.2.1 Lokalisation

Bezogen auf die Lokalisation wurde im Gesamtkollektiv zunächst seitengetrent zwischen linker und rechter periorbitaler Region unterschieden.

Im Vergleich beider Seiten ergab sich nur ein geringer Unterschied, linke und rechte Seite sind mit 54% bzw. 46% in etwa gleich häufig betroffen.

Die periorbitale Region wurde weiter in Ober- und Unterlid mit je einem nasalen, mittleren und temporalen Teil eingeteilt, zusätzlich wurde ein nasaler und temporaler Lidwinkel betrachtet. So ergaben sich 8 Gruppen mit verschiedenen Häufigkeiten.

Fälle, bei denen sich die Lokalisation nicht eindeutig zuordnen ließ, fanden keine Berücksichtigung, so dass die folgende Betrachtung an 235 Basalzellkarzinomen durchgeführt wurde.

In der Gesamtbetrachtung der Lokalisationsverteilung (Abb. 13) zeigte sich hauptsächlich der mittlere Anteil des Unterlides in 39% (n=91) der Fälle betroffen, gefolgt von seinem nasalen Anteil mit 18% (n=43). Der nasale Lidwinkel war zu 17% (n=41) befallen. Den seltensten Manifestationsort bildete der temporale Lidwinkel mit 3% (n=6).

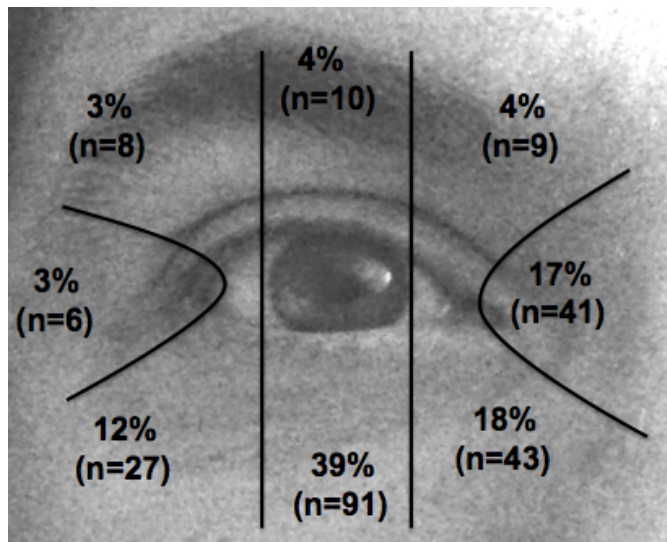


Abb. 13 Häufigkeiten der BZK getrennt in 8 Regionen (n=235)

Bei einer horizontalen Einteilung (n=188) unter Ausschluss der Lidwinkel (Abb. 14) fällt ein überwiegender Befall des Unterlides auf. Insgesamt war das Unterlid in 86% der Fälle (n=161) betroffen, das Oberlid hingegen nur in 14% (n=27).

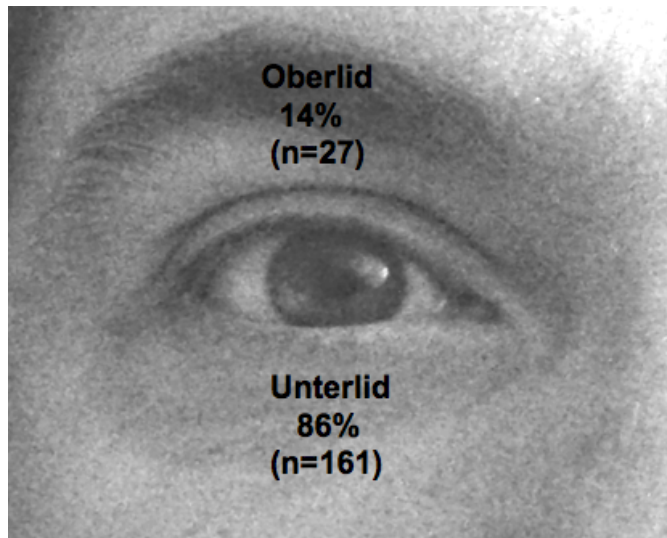


Abb. 14: Häufigkeiten der BZK getrennt nach Ober- und Unterlid (n=188)

Mit einer Einteilung in vier Regionen (Abb. 15), die eine Betrachtung der Lidwinkel miteinbezieht, war das Unterlid mit 69% (n=160) am häufigsten betroffen. Der nasale Lidwinkel folgte mit 17% (n=41).

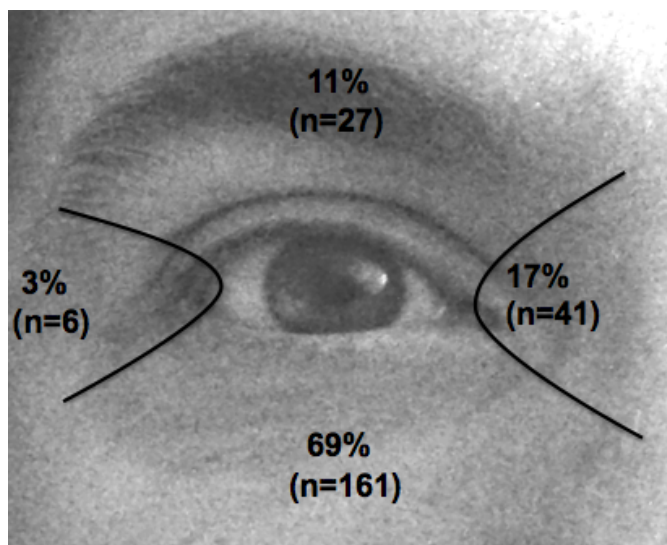


Abb. 15: Häufigkeiten der BZK getrennt in 4 Regionen (n=235)

Bei der Betrachtung der vertikalen Einteilung in eine temporale, mittige und nasale Region (Abb.16) wird deutlich, dass sich die Basalzellkarzinome vor allem in der mittleren Lidregion mit 43% (n=101) manifestierten. Die nasale Lidregion war 39% (n=93), die temporale Lidregion in nur 18% (n=41) betroffen.

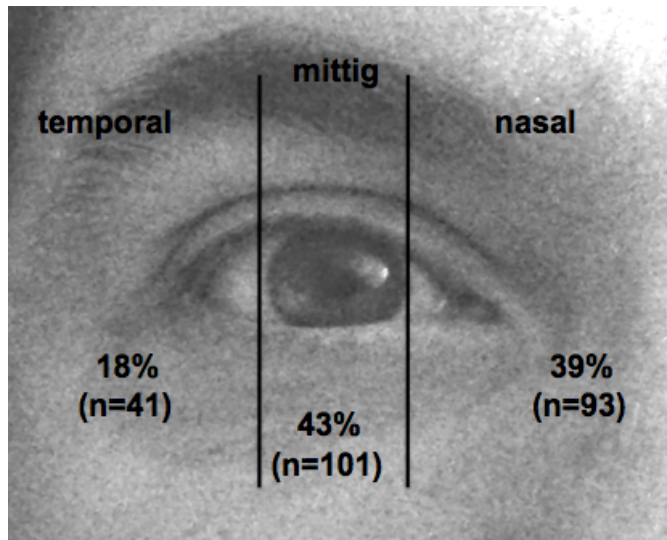


Abb. 16: Häufigkeiten der BZK in vertikaler Einteilung (n=235)

5.2.2 Histologischer Subtyp

Die 241 Basalzellkarzinome wurden anhand ihres histologischen Erscheinungsbildes klassifiziert. Sie ließen sich im Rahmen der vorliegenden Arbeit anhand der im Methodikkapitel unter 4.3.3 aufgeführten Tabelle (Tab. 2) den verschiedenen Subtypen zuordnen (Abb. 17).

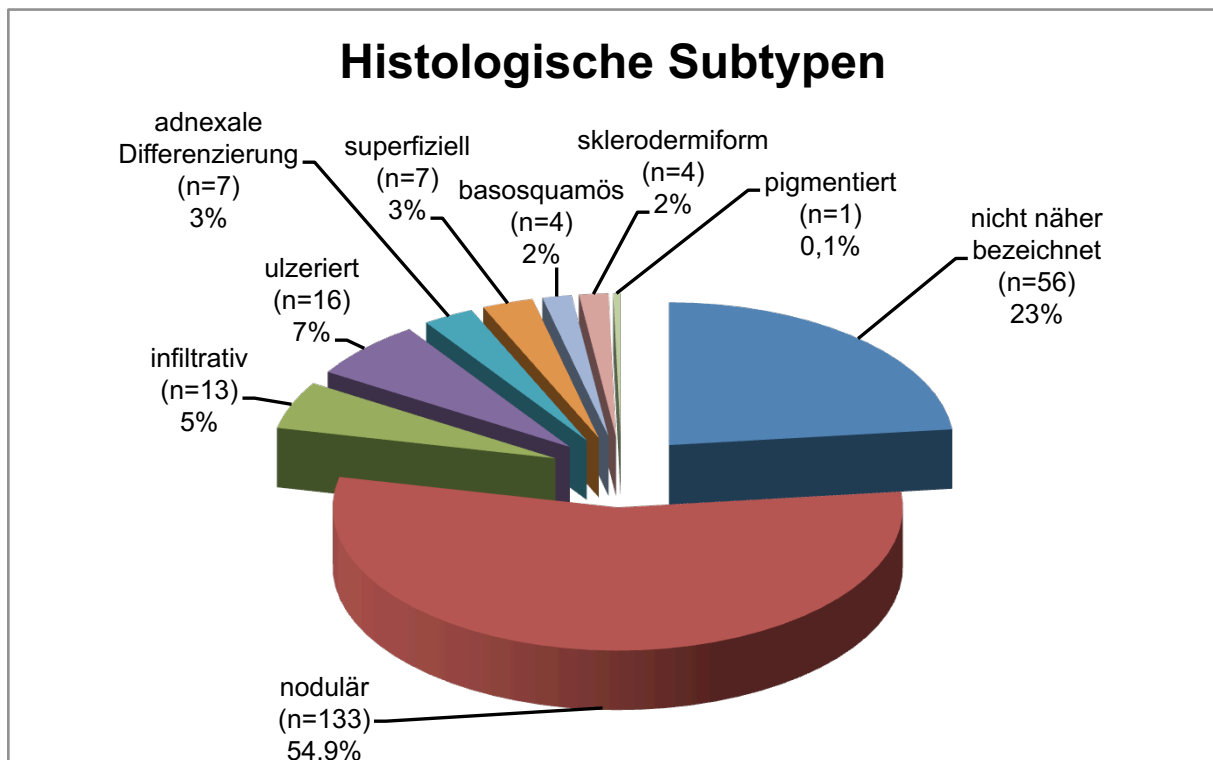


Abb. 17: Häufigkeitsverteilung hinsichtlich ihrer Histologie (n=241)

Der noduläre Subtyp des Basalzellkarzinoms stellt mit 55% (n=133) die häufigste Entität dar. In 7% (n=16) der Fälle lag ein ulzeriertes Basalzellkarzinom vor. Die infiltrative Form machte 5% (n=13) aus, eine adnexale Differenzierung fand sich in 3% (n=7) aller Subtypen. Das superfizielle Basalzellkarzinom machte 3% (n=7) der Diagnosen aus. Der Anteil basosquamöser und sklerodermiformer Subtypen betrug je 2% (n=4), eine Pigmentierung ließ sich in nur einem Fall nachweisen. 23% (n=56) Basalzellkarzinome wurden nicht näher bezeichnet.

5.3 Tumorbezogene Parameter der Subkollektive

5.3.1 Größter Durchmesser

Im Subkollektiv 1 wurde die histologische Tumorgroße in Form des größten Durchmessers in Millimetern bestimmt (Abb. 18). Im Durchschnitt betrug der größte 3,4 mm (SD± 1,5 mm), mit einer Spannweite von 0,2 mm des kleinsten und 7,2 mm des größten Durchmessers.

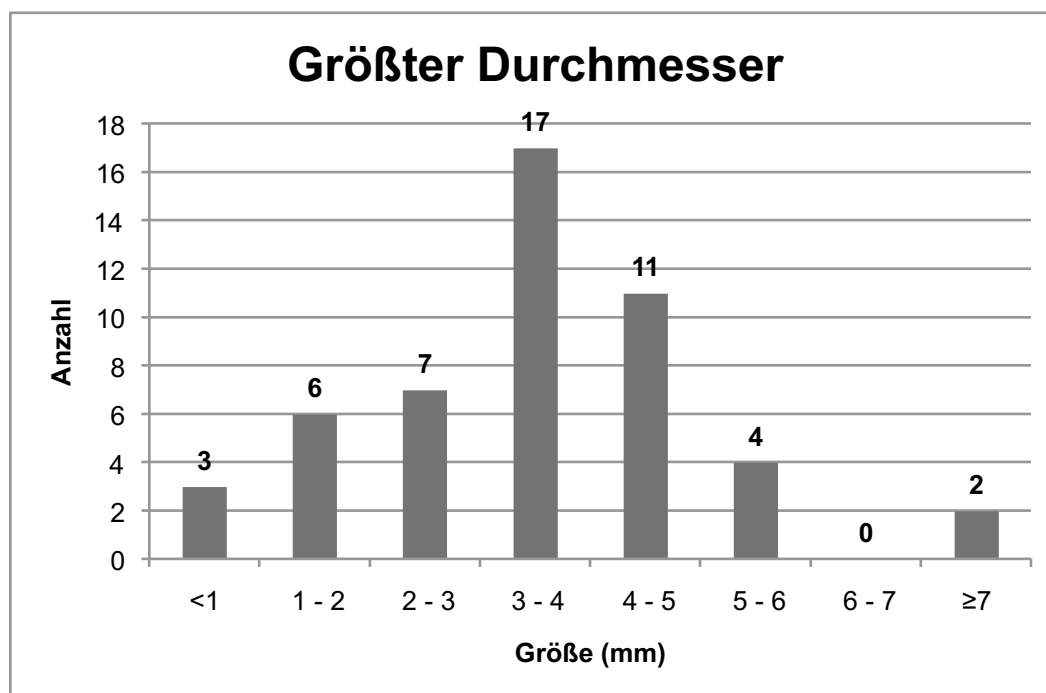


Abb. 18: Häufigkeitsverteilung des Größten Durchmessers (n=50)

Betrachtet man die Tumorgroße für den jeweiligen histologischen Subtypen (Abb.10), so zeigt sich der superfizielle Typ mit einem Mittelwert von 0,9 mm als die kleinste, der infiltrative Typ mit einem Mittelwert von 4,1 mm als die größte Form.

Generell unterschieden sich die histologischen Subtypen des Gesamtkollektivs und der Subkollektive in Bezug auf ihre prozentuale Verteilung. So kamen die basosquamöse und pigmentierte Form, sowie das Basalzellkarzinom mit adnexaler Differenzierung in den Subkollektiven nicht vor.

5.3.2 Invasionstiefe

Die Invasionstiefe ermöglicht im Sinne der histologischen Tiefenausdehnung eine genauere Differenzierung des Primärtumors, da die sonst übliche TNM-Klassifikation hierfür nur bedingt aussagekräftig ist.

Bei der Bestimmung der Invasionstiefe im Subkollektiv 1 zeigte sich ein Durchschnitt von 1,8 mm (SD± 0,7 mm). Die kleinste Invasionstiefe betrug 0,2 mm und die größte 3,9 mm. Die generelle Verteilung zeigt Abbildung 19.

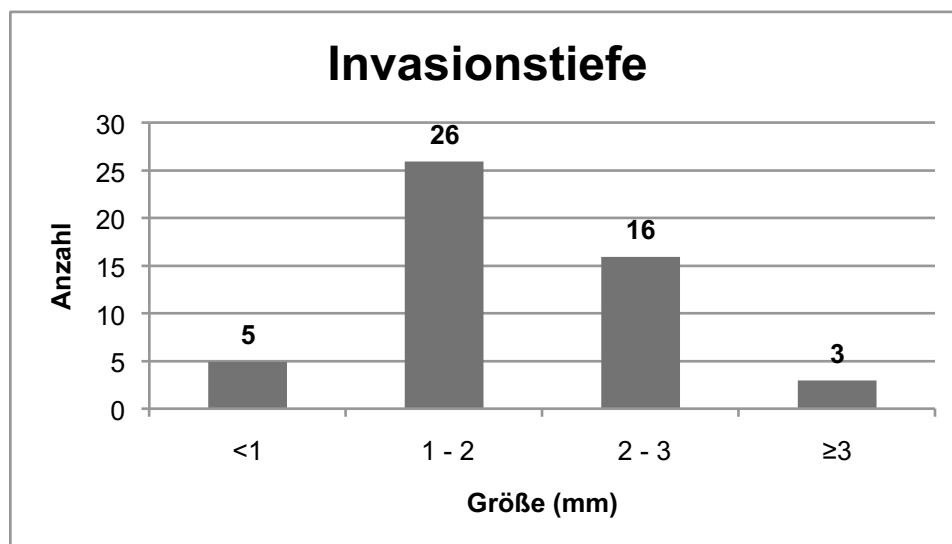


Abb. 19: Absolute Häufigkeitsverteilung der Invasionstiefe (n=50)

Das vertikale Wachstum der einzelnen histologischen Subtypen erfolgt in unterschiedlichem Ausmaß, so ist die Invasionstiefe des sklerodermiformen Basalzellkarzinoms mit 2,1 mm am größten, die des superfiziellen Basalzellkarzinoms mit 0,2 mm am kleinsten.

5.3.3 Sicherheitsabstand

Der Sicherheitsabstand bezeichnet den histologischen Abstand des Tumorgewebes zu den Schnitträndern und wurde im Subkollektiv 1 ebenfalls in Millimetern bestimmt.

Es wurde zwischen einem lateralen Sicherheitsabstand und in die Tiefe unterschieden.

Der Sicherheitsabstand in die Tiefe (Abb. 20) betrug im Durchschnitt 1,0 mm ($SD \pm 1,0$ mm) mit einer Spannweite von keinem (0 mm) bis maximal 4,5 mm Sicherheitsabstand .

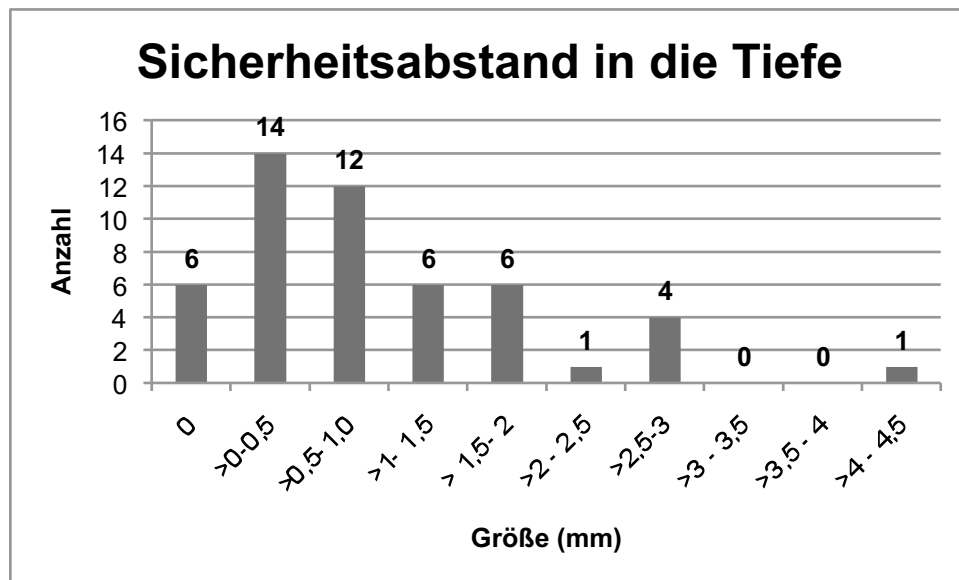


Abb. 20: Häufigkeitsverteilung des Sicherheitsabstandes in die Tiefe (n=50)

Beim horizontalen Sicherheitsabstand nach lateral (Abb. 21) lag der Durchschnitt bei 0,6 mm ($SD \pm 0,6$ mm) mit einer Spannweite von keinem Sicherheitsabstand (0 mm) bis maximal 2,3 mm.

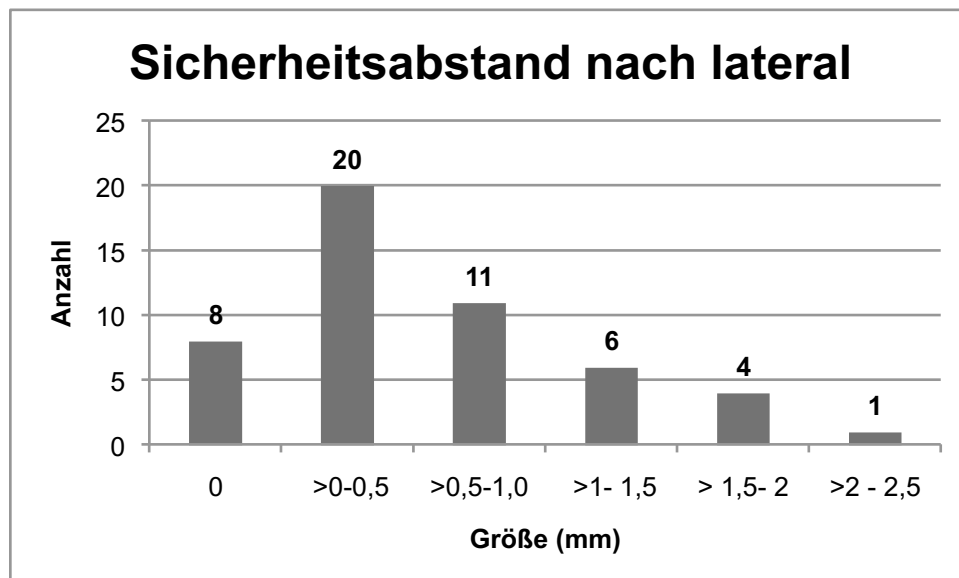


Abb. 21: Häufigkeiten Sicherheitsabstand nach lateral (n=50)

5.3.4 Immunhistochemie

Die Basalzellkarzinome des Subkollektivs 2 zeigten mit den unter Kapitel 4.2.4 beschriebenen Färbungen eine relevante Immunreaktivität und waren allesamt manuell auswertbar. Das charakteristische Färbebild der verwendeten Antikörper im Subkollektiv 2 wird im Folgenden mit den erhobenen und unter Tab. 3 (Kap.4.2.4.2) beschriebenen Scores dargestellt.

Für eine zusammenhängende Betrachtung der Expressionsintensität und histopathologischer Parameter wurden Übersichtstabellen erstellt. Dabei wurde zunächst das biologische Verhalten in Anlehnung an Walling et al. 2004 in non-aggressiv und aggressiv unterschieden (Tab. 5).

Tab. 5: Einteilung der BZK anhand ihres biologischen Verhaltens

non-aggressiv	aggressiv
<ul style="list-style-type: none"> • nodulär • superfiziell 	<ul style="list-style-type: none"> • ulzeriert • infiltrativ • sklerodermiform • basosquamös • adnexal differenziert

Des weiteren wurde der Residualtumor in R0: tumorfreie Schnittränder und davon abweichend in >R0: Tumorzellen in den Schnitträndern eingeteilt. Die Invasionstiefe sowie der Größte Durchmesser wurden anhand der Abweichung des Mittelwertes des Subkollektiv 1 in definiert.

5.3.4.1 ASMA

Betrachtet man die Anfärbungsscores der Basalzellkarzinome für ASMA (Abb. 22), so präsentierten die Hälfte der Tumore (n=10) eine niedrige Expressionsintensität des Score 1 und je 25% eine mittlere des Score 2 (n=5) und Score 3 (n=5).

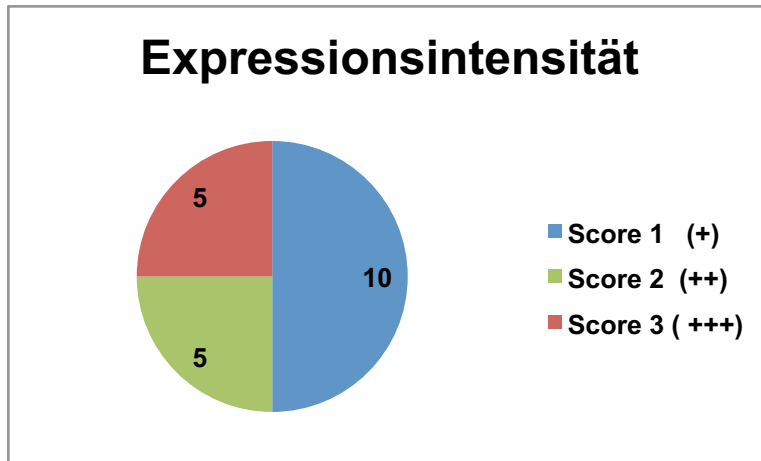


Abb. 22: Expressionsintensität für ASMA (n=20)

Die Integration von histopathologischen Parametern (Tab. 6) zeigte, dass 42,8 % (n=3) des aggressiven histologischen Subtyps gegenüber 15,4 % (n=2) des non-aggressiven Subtyps eine hochgradige Expressionsintensität von ASMA aufwiesen. Der Residualtumorstatus, die Invasionstiefe und der größte Durchmesser hatten hinsichtlich der Intensität numerisch keine große Signifikanz.

Tab. 6: Korrelation der ASMA-Expression mit histopathologischen Parametern

	ASMA-Expression		
	1	2	3
Biologisches Verhalten			
aggressiv (n=7)	3 (42,8%)	1 (14,3%)	3 (42,8%)
non-aggressiv (n=13)	7 (53,9%)	4 (30,8%)	2 (15,4%)
Residualtumor			
R0 (n=8)	5 (62,5%)	2 (25%)	1 (12,5%)
>R0 (n=12)	5 (41,7%)	3 (25%)	4 (33,3%)
Invasionstiefe			
<1,9 mm (n=17)	8 (47,1%)	4 (23,5%)	5 (29,4%)
>1,9 mm (n=3)	2 (66,7%)	1 (33,3%)	0
Größter Durchmesser			
<3,6 mm (n=8)	5 (62,5%)	1 (12,5%)	2 (25%)
>3,6 mm (n=12)	5 (41,7%)	4 (33,3%)	3 (25%)

5.3.4.2 Ki-67

Die Auswertung der Expressionsintensität von Ki-67 (Abb. 23) ergab einen Anteil von 35% (n=7) der Basalzellkarzinome mit einem schwachen Anfärbungsscore 1, 45% (n= 8) präsentierten einen mittleren Score 2 und 25% (n=5) eine ausgeprägte Expression eines Score 3.

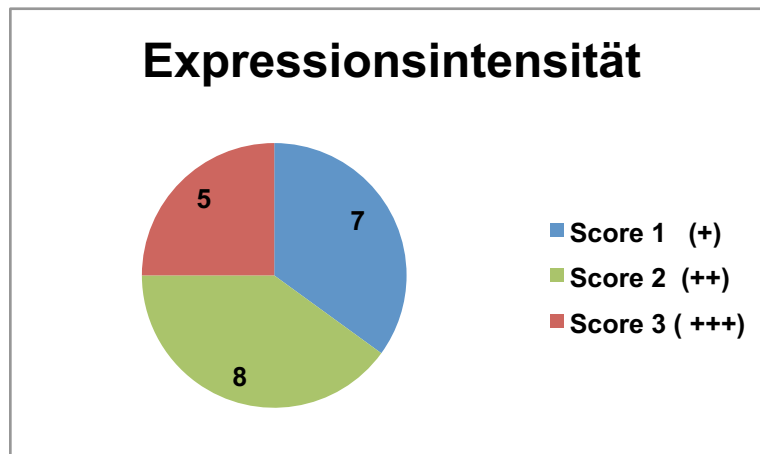


Abb. 23: Expressionsintensität für Ki-67 (n=20)

Im Zusammenhang mit den histopathologischen Parametern (Tab. 7) ergab sich auch hier für den Score 3 ein Überwiegen des Anteils von Basalzellkarzinomen mit aggressivem Verhalten mit 42,8% gegenüber 15,4% mit non-aggressivem Verhalten. Die hohe Expressionsintensität hatte in dem Subkollektiv 2 zum Zeitpunkt der Exzision keine größere Invasionstiefe, keinen größeren Durchmesser oder R0-Status.

Tab. 7: Korrelation der Ki-67-Expression mit histopathologischen Parametern

	Ki-67-Expression		
	1	2	3
Biologisches Verhalten			
aggressiv (n=7)	3 (42,8%)	1 (14,3%)	3 (42,8%)
non-aggressiv (n=13)	4 (30,8%)	7 (53,8%)	2 (15,4%)
Residualtumor			
R0 (n=8)	3 (37,5%)	3 (37,5%)	2 (25%)
>R0 (n=12)	4 (33,3%)	5 (41,7%)	3 (25%)

Invasionstiefe			
<1,9 mm (n=17)	6 (35,3%)	6 (35,3%)	5 (29,4%)
>1,9 mm (n=3)	1 (33,3%)	2 (66,7%)	0
Größter Durchmesser			
<3,6 mm (n=8)	4 (50%)	2 (25%)	2 (25%)
>3,6 mm (n=12)	3 (25%)	6 (50%)	3 (25%)

5.3.4.3 COX-2

Bei den Färbungen für COX-2 (Abb. 24) zeigte die Mehrheit der Basalzellkarzinome mit 65% (n=13) einen Score 1, 25% (n=5) zeigten einen Score 2 und nur 10% (n=2) eine ausgeprägte Expression von COX-2.

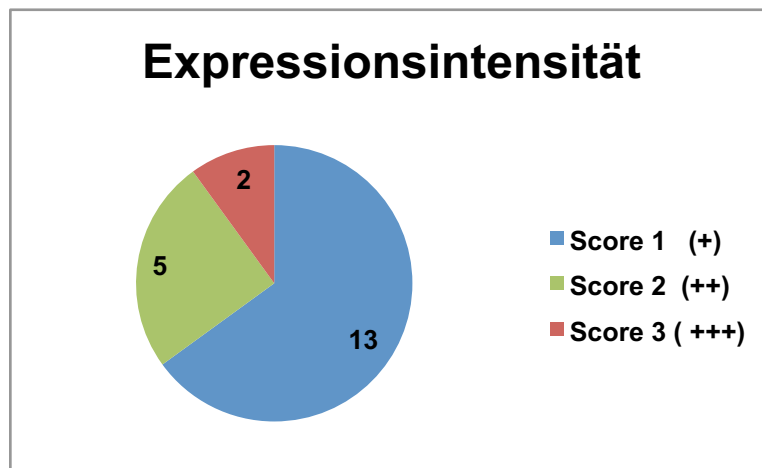


Abb. 24: Expressionsintensität für COX-2 (n=20)

In Korrelation mit den histopathologischen Parametern zeigte sich bei keinem der Parameter eine Signifikanz für eine hohe COX-2 Expression (Tab. 8).

Tab. 8: Korrelation der COX-2-Expression mit histopathologischen Parametern

	COX-2-Expression		
	1	2	3
Biologisches Verhalten			
aggressiv (n=7)	4 (57,1%)	2 (28,6%)	1 (14,3%)
non-aggressiv (n=13)	9 (69,2%)	3 (23,1%)	1 (7,7%)

Residualtumor			
R0 (n=8)	4 (50%)	3 (37,5%)	1 (12,5%)
>R0 (n=12)	9 (75%)	2 (16,7%)	1 (8,3%)
Invasionstiefe			
<1,9 mm (n=17)	11 (64,7%)	4 (23,5%)	2 (11,8%)
>1,9 mm (n=3)	2 (66,7%)	1 (33,3%)	0
Größter Durchmesser			
<3,6 mm (n=8)	5 (62,5%)	3 (37,5%)	0
>3,6 mm (n=12)	8 (66,6%)	2 (16,7%)	2 (16,7%)

5.3.4.4 ED-A Fibronektin

Bei 35% (n=7) der Tumoren ergab sich ein Anfärbungsscore von 1, 40% (n=8) zeigten einen Score 2 und 25% (n=5) wiesen eine deutlichere Expression mit einem Score von 3 auf (Abb. 25) auf.

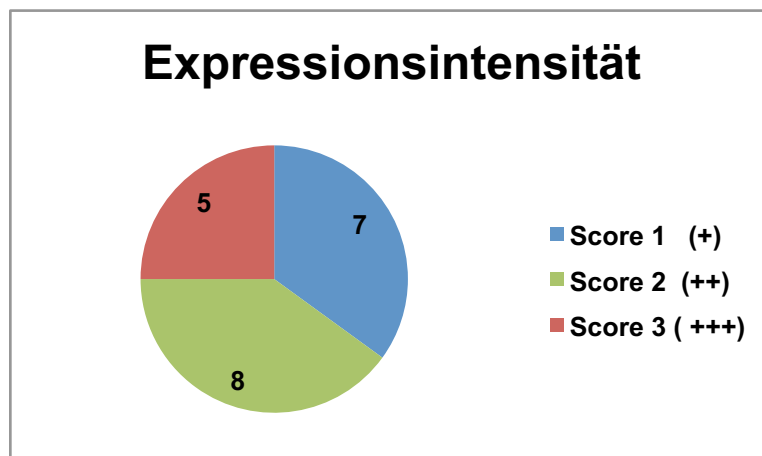


Abb. 25: Expressionsintensität für ED-A (n=20)

Bei der Integration der histopathologischen Parameter (Tab. 9) fällt eine Signifikanz für sowohl die aggressiven Formen der Basalzellkarzinome als auch die R0-Resektion für eine hochgradige ED-A-Expression auf. Eine Korrelation zeigte sich jedoch weder für die Invasionstiefe noch für den größten Durchmesser.

Tab. 9: Korrelation der ED-A-Expression mit histopathologischen Parametern

	ED-A-Expression		
	1	2	3
Biologisches Verhalten			
aggressiv (n=7)	2 (28,6%)	1 (14,3%)	4 (57,1%)
non-aggressiv (n=13)	5 (38,5%)	7 (53,8%)	1 (7,7%)
Residualtumor			
R0 (n=8)	4 (50%)	3 (37,5%)	1 (12,5%)
>R0 (n=12)	3 (25%)	5 (41,7%)	4 (33,3%)
Invasionstiefe			
<1,9 mm (n=17)	6 (35,3%)	6 (35,3%)	5 (29,4%)
>1,9 mm (n=3)	1 (5%)	2 (10%)	0
Größter Durchmesser			
<3,6 mm (n=8)	3 (37,5%)	3 (37,5%)	2 (25%)
>3,6 mm (n=12)	4 (33,3%)	5 (41,7%)	3 (25%)

5.3.4.5 E-Cadherin

Für die Expressionsintensität von E-Cadherin (Abb. 26) erreichten 50% (n=10) der Basalzellkarzinome einen Anfärbungsscore von 1, 35% (n=7) wiesen einen von 2 und 15% (n=3) einen von 3 auf.

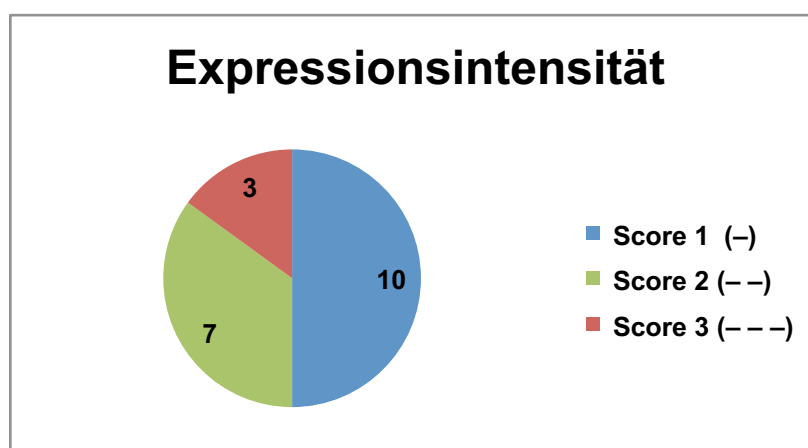


Abb. 26: Expressionsintensität für E-Cadherin (n=20)

Bei der Betrachtung der Korrelation zwischen einer hohen Expressionsintensität für E-Cadherin und den histopathologischen Parametern (Tab.10) zeigen das

aggressive Verhalten, die R0-Situation und die Invasionstiefe keine Signifikanz. Jedoch hat der größte Durchmesser eine numerische Relevanz zur Expressionsintensität von E-Cadherin.

Tab. 10: Korrelation der E-Cadherin-Expression mit histopathologischen Parametern

	E-Cadherin-Expression		
	1	2	3
Biologisches Verhalten			
aggressiv (n=7)	5 (71,4%)	2 (28,6%)	0
non-aggressiv (n=13)	5 (38,5%)	5 (38,5%)	3 (23%)
Residualtumor			
R0 (n=8)	4 (50%)	2 (25%)	2 (25%)
>R0 (n=12)	6 (50%)	5 (41,7%)	1 (8,3%)
Invasionstiefe			
<1,9 mm (n=17)	8 (47%)	7 (41,2%)	2 (11,8%)
>1,9 mm (n=3)	2 (66,7%)	0	1 (33,3%)
Größter Durchmesser			
<3,6 mm (n=8)	6 (75%)	2 (25%)	0
>3,6 mm (n=12)	4 (33,3%)	5 (41,7%)	3 (25%)

5.4 Therapiebezogene Parameter

5.4.1 Residualtumoren nach Erstexzision

Bei den 241 chirurgisch behandelten Basalzellkarzinomen im Gesamtkollektiv konnte in 42,7% der Fälle (n=103) eine R0-Situation bei Erstexzision erreicht werden, hingegen lag in 49,8% Fällen (n=120) eine R1-Situation vor (Abb. 27).

In 6,6% der Fälle (n=16) erfolgte zunächst als Erstexzision eine Probebiopsie, die in der vorliegenden Studie als R2-Situation klassifiziert wurde.

Bei 0,8% (n=2) war die Schnittrandkontrolle nicht sicher beurteilbar. In Absprache mit den Patienten wurden keine Nachresektionen durchgeführt und Kontrollen empfohlen. Während einer Nachbeobachtungszeit von je 13 Monaten bestand kein Anhalt für eine sonstige Komplikation oder ein Rezidiv.

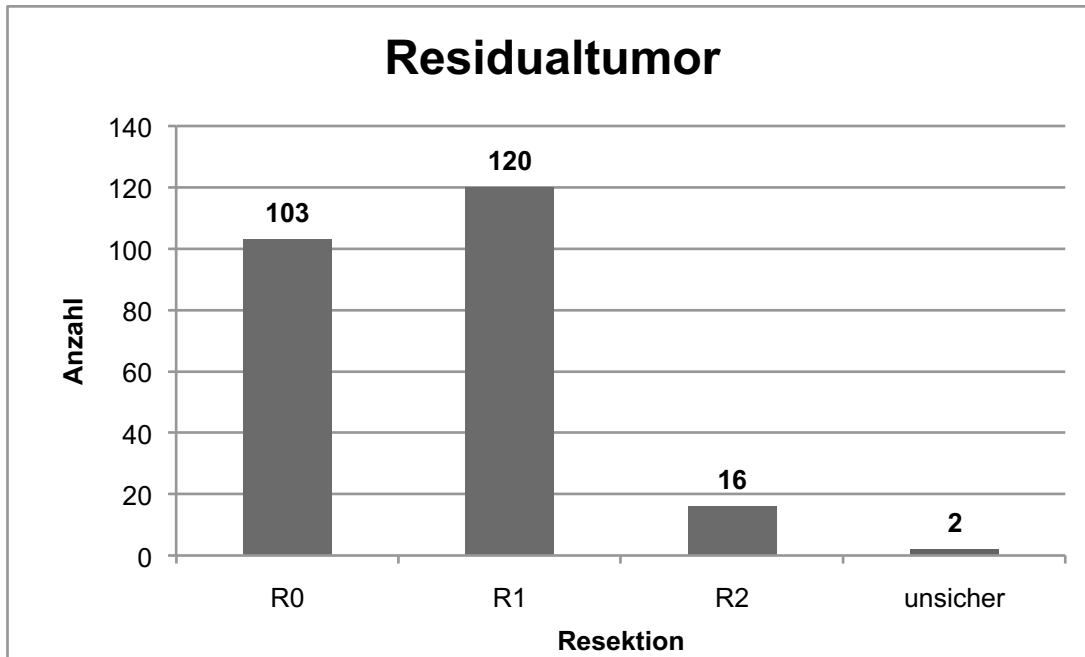


Abb. 27: Residualtumor nach Erstexzision (n=241)

Eine genaue Betrachtung der Residualtumoren in Abhängigkeit des histologischen Subtyps (Abb.21) ergibt, dass Basalzellkarzinome vom nodulären Typ in 46,6% (n=62) der Fälle vollständig bei Erstexzision reseziert werden konnten.

Die superfiziellen Basalzellkarzinome wurden lediglich zu 14,3% (n=1) vollständig bei Erstexzision reseziert, zu 71,4% (n=5) ergab sich eine R1- und zu 14,3 % (n=1) eine R2-Situation.

Bei den sklerodermiformen Basalzellkarzinomen (n=4) lag bei Erstexzision zu je 50% eine R0- (n=2) und R1- Situation (n=2) vor, das pigmentierte Basalzellkarzinom (n=1) konnte vollständig bei Erstexzision entfernt werden.

Bei den restlichen histologischen Subtypen ließ sich eine ähnliche Verteilung von R0- und R1-Situationen mit 40-50% beobachten.

Betrachtet man die Residualtumoren in Abhängigkeit der Lokalisationen ergab sich für das temporale Ober- und Unterlid eine etwa gleiche Verteilung von R0-Resektionen mit 50% (n=4) bzw. 48,2% (n=13) gegenüber Residualtumoren bei Erstexzision.

Ein Überwiegen der R1-Resektionen ergab sich für das mittlere Ober- und Unterlid von 60% (n=6) und 52,7% (n=48) sowie des nasalen Lidwinkels in 58,5% (n=24).

Die Mehrzahl einer R0-Situation fand sich mit 67% sowohl für das nasale Oberlid mit 66,7% (n=6) als auch für den temporalen Lidwinkel (n=4) gegenüber einer R1-Situation mit je 33,3 % (n=3 bzw. n=2).

Um den Zusammenhang zwischen Subtyp, Lokalisation und der Notwendigkeit einer Nachresektion herauszustellen, wurde eine binär logistische Regressionsanalyse durchgeführt.

Dabei zeigte sich, dass für die gleiche Lokalisation kein Unterschied bezüglich des histologischen Subtyps und einer solchen bestand (OR 0,97, 95% CI 0,85-1,11).

Für den gleichen Subtyp spielte die Lokalisation bezüglich der Notwendigkeit einer Nachresektion auch keine Rolle (OR 1,05, 95% CI 0,88-1,24).

5.4.2 Anzahl der Nachresektionen

Der Nachweis von Tumorzellen in den Schnitträndern stellt eine Indikation zu einer Nachresektion dar. Trotz gesicherter R1-Situation erfolgte in 3 Fällen keine Nachresektion. Man entschied sich zusammen mit den Patienten für eine Beobachtung. Während einer Nachbeobachtungszeit von 73, 83 und 99 Monaten gab es in keinem der Fälle einen Anhalt für eine Komplikation oder ein Rezidiv.

In 133 Fällen wurde eine Nachresektion durchgeführt, dabei waren bis zum Erreichen der Tumorfreiheit unterschiedlich viele Operationen nötig (Abb. 28).

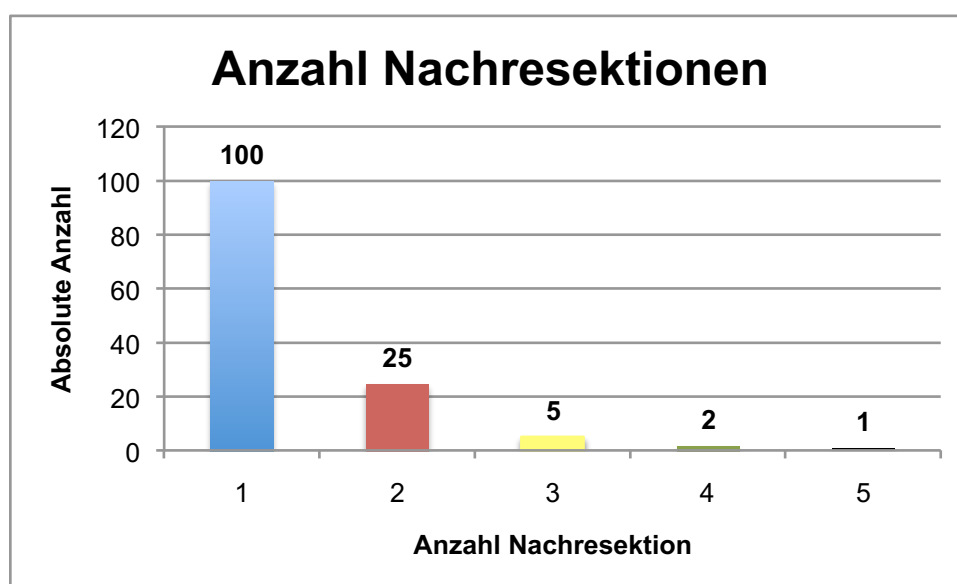


Abb. 28: Anzahl der Nachresektionen (n=133)

Bei den ein- bis viermal nachresezierten Basalzellkarzinomen handelte es sich in 48% bis 72% der Fälle um die noduläre Form.

Hinsichtlich der Lokalisationen machte das mittlere Unterlid den größten Anteil der einfachen und multiplen Nachresektionen mit ca. 40% der Fälle aus.

5.4.3 Deckung

Die Defektdeckung erfolgte mit den im Methodikkapitel erläuterten Techniken, deren Verteilung in Abbildung 29 dargestellt ist.

Die am häufigsten angewandte Methode war mit 41% (n=100) aller Fälle der primäre Wundverschluss. Die Laissez-Faire-Technik kam in 30% (n=73) der Fälle zur Anwendung. In 22% (n=52) der Fälle wurde der Defekt durch ein gestieltes Transplantat verschlossen, ein freies Transplantat kam nur in 5% (n=11) der Fälle zum Einsatz. Bei 2% (n=5) der Fälle war der Defekt so tiefgreifend, dass die Deckung interdisziplinär mit anderen Fachrichtungen erfolgte, um ein optimales funktionelles und kosmetisches Ergebnis zu erzielen.

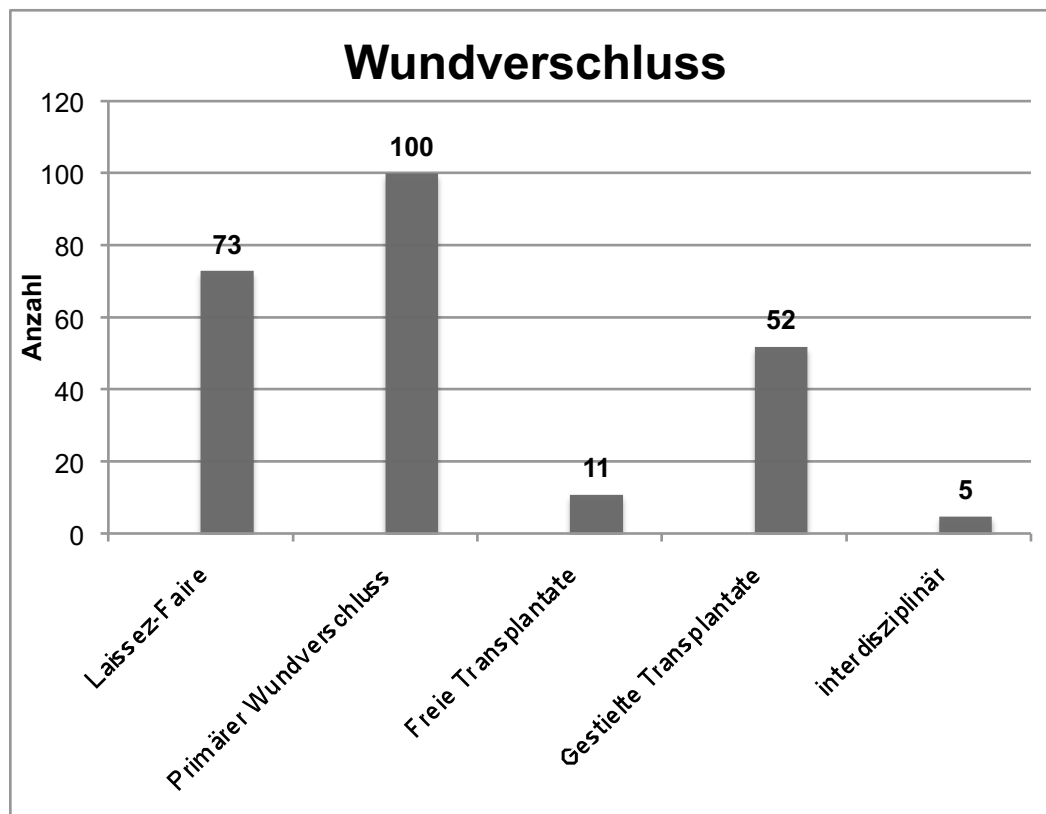


Abb. 29: Häufigkeiten der Deckungstechniken (n=241)

5.5 Rezidive und Zusammenhangsanalyse

5.5.1 Rate von Rezidiven und Non-Rezidiven und Beobachtungsdauer

In Abbildung 30 ist die Rezidivhäufigkeit dargestellt. Von den insgesamt 241 Basalzellkarzinomen des Gesamtkollektivs handelte es sich in 13,7% (n=33) der Fälle um ein Rezidiv, dessen Primärtumor entweder in der Klinik für Augenheilkunde des HELIOS Klinikums Erfurt oder außerhalb schon einmal einer Therapie zugeführt wurde und per definitionem als Rezidiv bezeichnet wird. Bezogen auf die Patientenzahl erlitten 12,1% (n=27) der Patienten ein Rezidiv.

Ein Patient erkrankte mit 2 Basalzellkarzinomen zu unterschiedlichen Zeitpunkten an verschiedenen Lokalisationen des gleichen Auges.

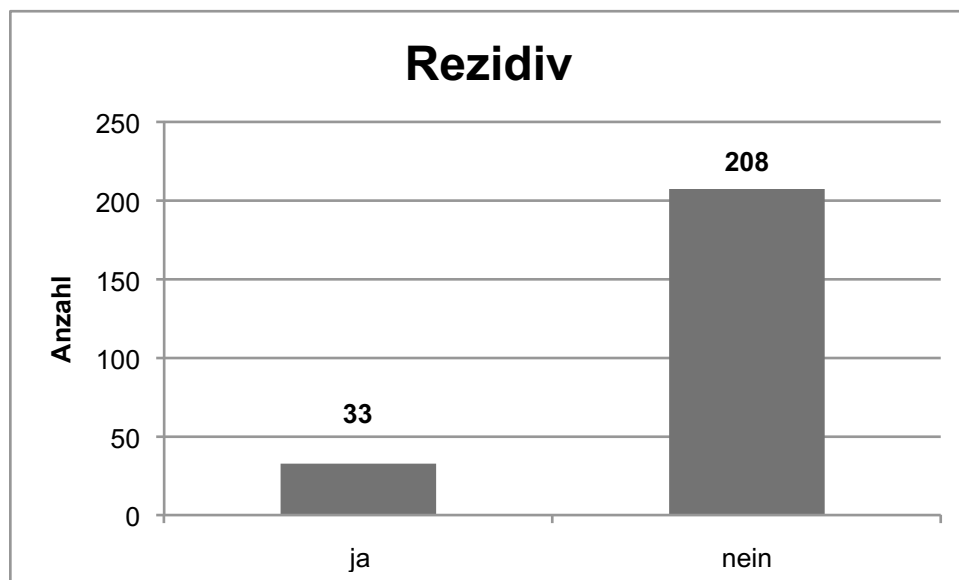


Abb. 30: Rezidivaufreten im Gesamtkollektiv in 10 Jahren (n=241)

Bei der weiteren Betrachtung der 33 Rezidive ergaben sich 23% (n=6) Re-Rezidive. In zwei Fällen stellten sich die Patienten bereits mit einem Rezidiv nach einem Primärtumor vor Beginn der Beobachtungszeit in der Augenklinik vor.

Die Beobachtungsdauer betrug im Mittelwert 47,7 Monate (SD± 32,1 Monate, Median 42 Monate, Minimum 0 Monate, Maximum 119).

Das Zeitintervall zwischen der Operation des Primärtumors und der Operation des Rezidivs (tumorfreies Intervall) betrug durchschnittlich 44,5 Monate (SD± 34,1 Monate; Median 36 Monate; Minimum 9 Monate; Maximum 143 Monate).

Die durchschnittliche Zeitspanne bis zum Auftreten eines Re-Rezidivs lag bei 25,7 Monaten ($SD \pm 13,7$ Monate; Median 21,5 Monate), mit 11 Monaten der frühesten und 46 Monaten der längsten Latenz zwischen der Operation des Erst- und des Zweitrezidivs.

Bezüglich der Rezidivfreiheit zeigte sich, dass in 86,3% ($n=208$) der Fälle ein Basalzellkarzinom als Primärtumor diagnostiziert wurde. Somit bestand bei 87,9% ($n=196$) der Patienten Rezidivfreiheit (*Actual freedom of event*).

Die Freiheit von Rezidiven wurde nach Kaplan-Meier analysiert (Abb. 31). Am Kurvenverlauf ist die zeitliche Abfolge der Rezidiventwicklung erkennbar, nach 5 Jahren besteht bei 85% und nach 10 Jahren bei 65% der Patienten Rezidivfreiheit (*Actuarial freedom of event*).

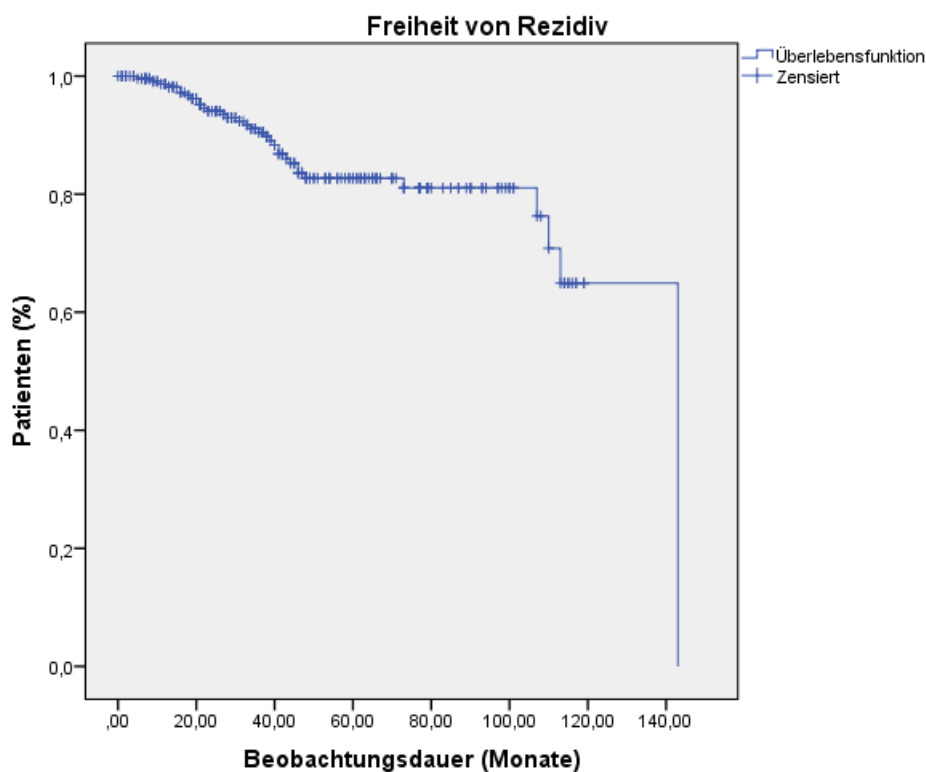


Abb. 31: Überlebenszeitanalyse nach Kaplan-Meier

5.5.2 Zusammenhangsanalyse Rezidive und patientenbezogene Parameter

5.5.2.1 Geschlecht

In der Rezidivgruppe waren mit einem Anteil von 61% (n=20) mehr Frauen als Männer mit 39% (n=13) betroffen, eine statistische Überprüfung ergab keinen signifikanten Unterschied für das Auftreten eines Rezidivs in Abhängigkeit des Geschlechts ($p = 0,97$).

5.5.2.2 Alter

Der Mittelwert der an einem Rezidiv erkrankten Patienten lag bei 71,5 Jahren. Es besteht kein wesentlicher Unterschied zwischen dem Durchschnittsalter der Patienten mit einem Rezidiv und einem Primärtumor (Rezidiv Alter=71,5 Jahre $SD \pm 14,2$, Non-Rezidiv Alter=72,2 Jahre $SD \pm 11,2$, $p=0,75$).

5.5.2.3 Multivariate Analyse

Bei der Cox-Regression der patientenbezogenen Parameter zeigte keine der Variablen Alter ($p=0,89$, $OR=0,99$, 95%CI 0,97 - 1,03) und Geschlecht ($p=0,86$, $OR=1,06$, 95%CI 0,5 - 2,2) statistische Signifikanz für das Auftreten eines Rezidivs.

5.5.3 Zusammenhangsanalyse Rezidive und tumorbezogene Parameter

5.5.3.1. Lokalisation

Von den 33 Rezidivtumoren entfielen 33% (n=11) auf die rechte, 67% (n=22) auf die linke periorbitale Region.

Bei der Betrachtung dieser (Abb. 32) ist festzustellen, dass die Mehrheit der Rezidive zu gleichen Teilen mit je 27,3% (n=9) im Bereich des nasalen Unterlides und nasalen Lidwinkels lokalisiert waren, das mittige Unterlid war mit 24,2% (n=8) Manifestationsort.

Bei einer vertikalen Einteilung, wie unter Kapitel 5.2.1 beschrieben, hat die nasale Lidregion damit den größten Anteil an Rezidiven. Bei einer horizontalen Betrachtung fällt für die Rezidivrate des Oberlides grundsätzlich eine nur geringe Ausprägung von 6,1% (n=2) auf.

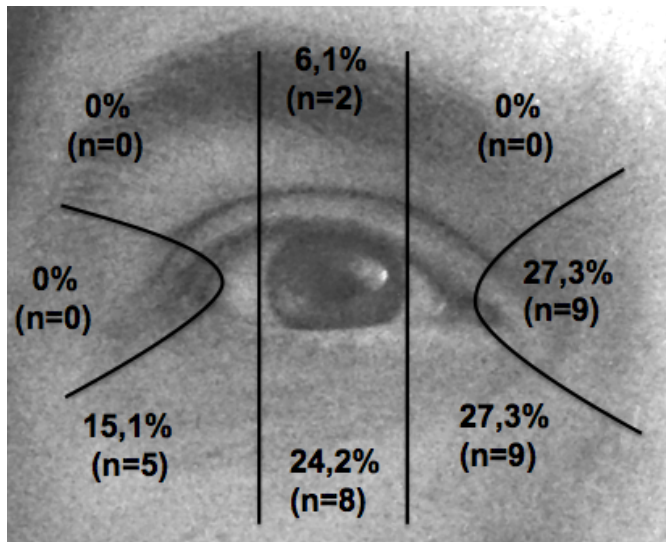


Abb. 32: Lokalisationsverteilung bei rezidierten Basalzellkarzinomen (n=33)

Gegeben durch die Lokalisationsvarianz erfolgte aufgrund der komplexeren Anatomie und einer damit verbundenen anspruchsvolleren Exzisionstechnik des nasalen periorbitalen Bereichs, eine binäre Verteilung der nasalen gegenüber einer mittigen und temporalen Region (Abb. 33). Numerisch zeigte sich hierbei mit 54,6% (n=18) nasal ein Mehrbefall. Es ergab sich allerdings keine statistische Signifikanz ($\chi^2=2,72$, $p=0,13$).

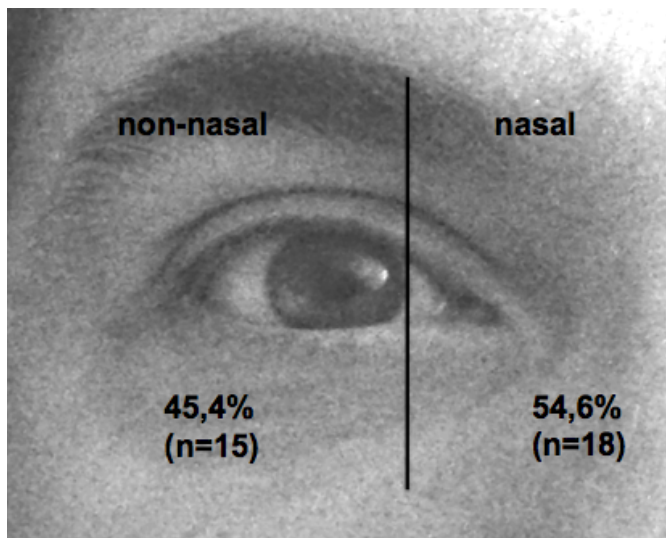


Abb. 33: Lokalisation der Rezidive in Abhängigkeit einer binären Verteilung (n=33)

5.5.3.2. Histologischer Subtyp

Unter den Rezidiven wurde mit 48% (n=16) die noduläre Form am häufigsten diagnostiziert, gefolgt von der nicht näher bezeichneten Form mit 24% (n=8). Das ulzerierte Basalzellkarzinom trat in 9% (n=3) und das infiltrative in 6% (n=2) der Fälle auf. Das superfizielle, sklerodermiforme und basosquamöse sowie das Basalzellkarzinom mit adnexaler Differenzierung traten je zu 3% (n=1) auf.

Um eine aussagekräftigere Analyse vornehmen zu können, erfolgte eine binäre Betrachtung, wie in Kapitel 5.3.4 (Tab.2) beschrieben, der 8 verschiedenen histologischen Subtypen in den Formen „aggressiv“ und „non-aggressiv“. Bei der statistischen Überprüfung ergaben sich keine Unterschiede zwischen den beiden Formen bezüglich der Rezidiventwicklung. ($\chi^2=0,79$, $p=0,45$).

5.5.3.3. Multivariate Analyse

Für die tumorbezogenen Parameter zeigte sich, dass bezüglich des Rezidivauftritts weder die aggressive noch die non-aggressive Form einen signifikanten Risikofaktor darstellen ($p=0,21$, $OR=1,75$, 95%CI 0,7 - 4,3). Bezüglich der Lokalisation fand sich ebenfalls keine Signifikanz ($p=0,46$, $OR=0,74$, 95%CI 0,3 - 1,6).

5.5.4 Zusammenhangsanalyse Rezidive und tumorbezogene Parameter der Subkollektive

Im Subkollektiv 1 fanden sich unter 50 Primärtumoren 10 Basalzellkarzinome, die im Beobachtungszeitraum rezidierten. Für diese 10 Primärtumoren lagen die im Folgenden zusätzlichen Parameter vor.

5.5.4.1 Größter Durchmesser

Bei der Größenverteilung der Rezidivtumoren zeigt sich eine mittlere Tumorgöße von 4 mm ($SD\pm 1,2$).

Der größte Durchmesser der Non-Rezidive lag im Durchschnitt bei 3,3 mm ($SD\pm 1,5$). Für diesen Größenunterschied ergab sich keine statistische Signifikanz ($p=0,19$).

5.5.4.2 Invasionstiefe

Die Invasionstiefe der Rezidive betrug im Durchschnitt 1,9 mm ($SD\pm 0,7$). Das Invasionsniveau war somit ähnlich wie das der Non-Rezidive mit durchschnittlichen 1,8 mm ($SD\pm 0,7$) und ohne Signifikanz ($p=0,64$).

5.5.4.3 Sicherheitsabstand in die Tiefe und nach lateral

Der Sicherheitsabstand nach lateral war durchschnittlich bei den Rezidiven 0,4 mm ($SD \pm 0,3$) groß und 0,7mm ($SD \pm 0,6$) bei den Non-Rezidiven.

Bei den Rezidiven betrug der mikroskopische Sicherheitsabstand in die Tiefe 0,8 mm ($SD \pm 0,6$). Bei den Non-Rezidiven lag der Mittelwert bei 1,0 mm ($SD \pm 1,0$).

Bei der Überprüfung auf Signifikanz zeigte sich, dass der Sicherheitsabstand nach lateral signifikant kleiner war ($p=0,027$). Für einen Sicherheitsabstand in die Tiefe ergab sich hingegen keine Signifikanz ($p=0,48$).

5.5.4.4 Immunhistochemie

Das Subkollektiv 2 bestand aus 20 Primärtumoren, von denen 10 Basalzellkarzinome im Beobachtungszeitraum rezidierten. Wie in Kapitel 4.2.4.2 beschrieben, erfolgte die Erhebung der immunhistochemischen Reaktion mithilfe eines semiquantitativen numerischen Scores in eine schwache, mäßige und starke Expressionsintensität.

ASMA

Die gemessenen Intensitäten der ASMA-Expression zeigten für die Rezidive und Non-Rezidive in allen Scores nur geringfügige Unterschiede (Abb. 34). Die Mehrzahl der Basalzellkarzinome wies unabhängig des Rezidivstatus eine schwache bis mäßige Expression auf. Nur 2% ($n=2$) der Rezidive hatten eine starke Expression von ASMA.

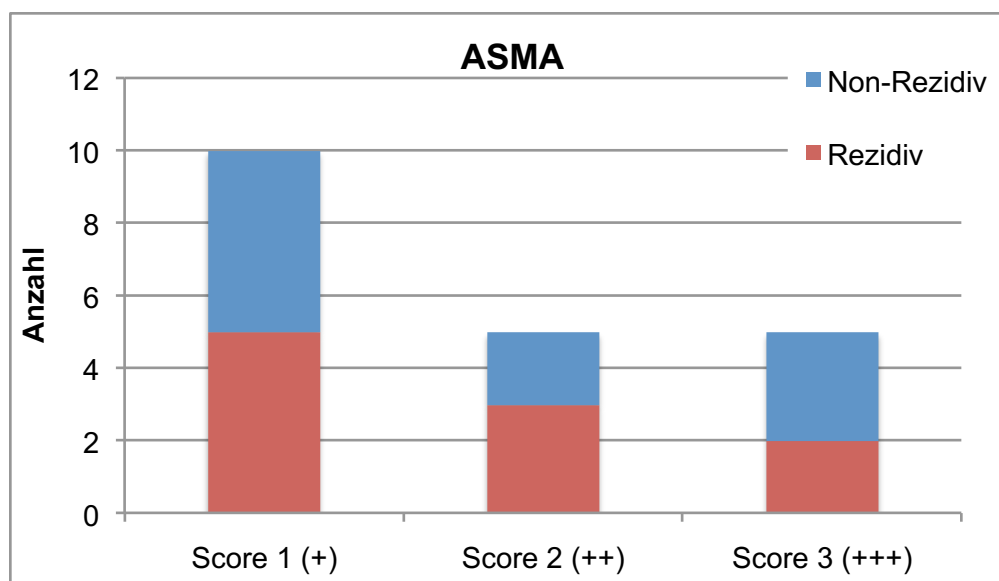


Abb. 34: Expressionsintensitäten Rezidive und Non-Rezidive für ASMA ($n=20$)

COX-2

Die Mehrheit der Rezidive weist mit 90% (n=9) eine nur schwache (80%, n=8) bis mäßige (10%, n=1) Expression von COX-2 auf. Verglichen mit den Non-Rezidiven besteht hier kein signifikanter Unterschied. Generell ist der Score 3 mit 10% (n=1) der Rezidive und Non-Rezidive nur wenig exprimiert (Abb. 35).

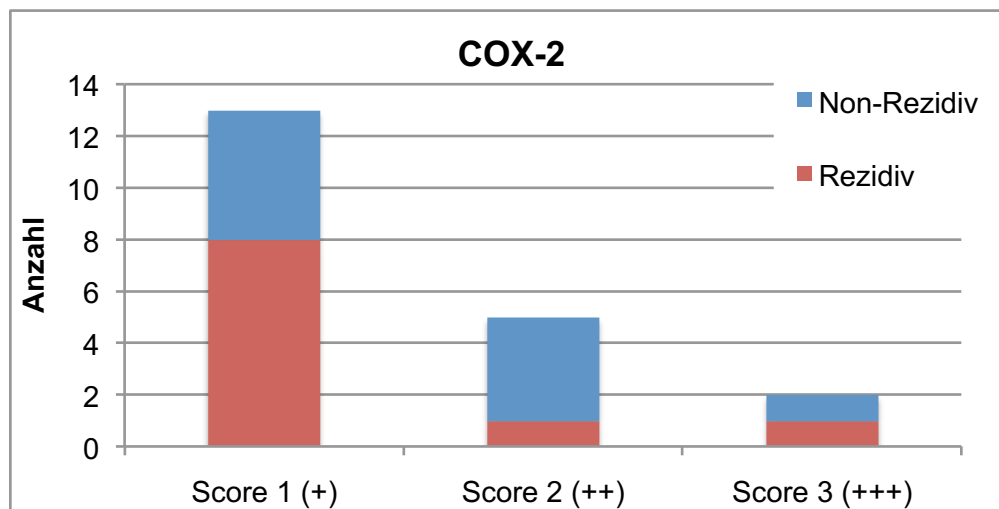


Abb. 35: Expressionsintensitäten Rezidive und Non-Rezidive für COX-2 (n=20)

Ki-67

Der Vergleich der Ki-67- Expression zeigte kaum signifikante Unterschiede innerhalb der einzelnen Scores zwischen den beiden Gruppen (Abb. 36). Auffällig war jedoch, dass Score 2 von 50% (n=5) der Rezidive und nur von 30% (n=3) der Non-Rezidive exprimiert wurde.

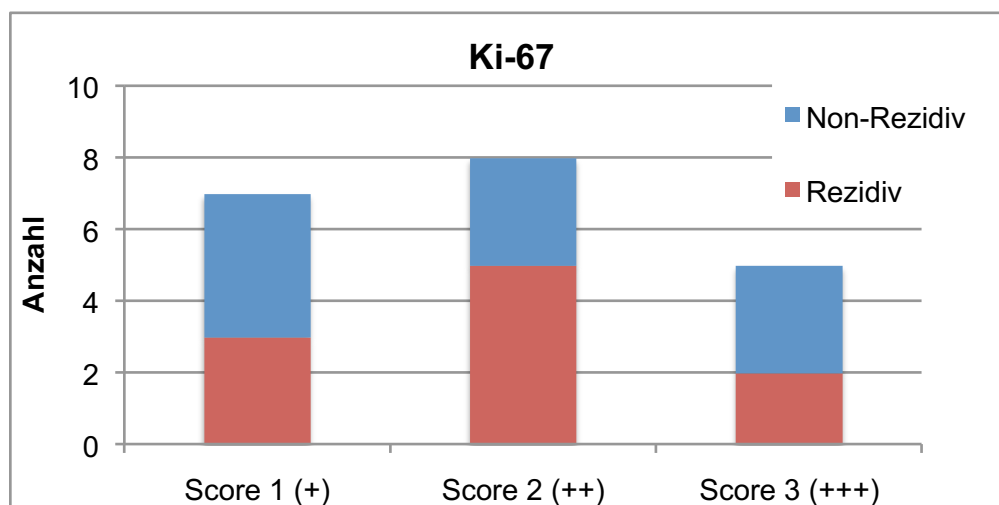


Abb. 36: Expressionsintensitäten Rezidive und Non-Rezidive für Ki-67 (n=20)

ED-A Fibronektin

90% (n=9) der Rezidive hatten eine schwache bis mäßige Expression von Score 1 (50%, n=5) und 2 (40%, n=4), wohingegen nur 10% (n=1) eine hochgradige Expression aufwiesen. Bei den Non-Rezidiven ging die Tendenz eher zu einer mäßigen bis starken Expression (Abb. 37).

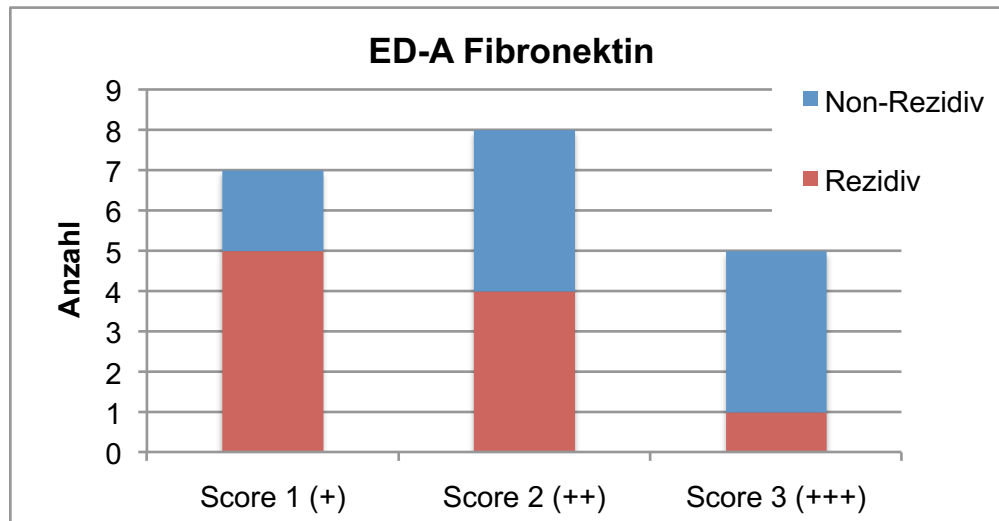


Abb. 37: Expressionsintensitäten Rezidive und Non-Rezidive für ED-A Fibronektin (n=20)

E-Cadherin

Die Gruppe der später rezidivierenden Basalzellkarzinome weist in 80% der Fälle einen mäßigen (50%, n=5) bis starken (30%, n=3) Verlust von E-Cadherin auf. Auffällig ist, dass ausschließlich Rezidive den Score 3 exprimierten. Von den Non-Rezidiven wies keiner der Tumoren einen starken Verlust auf (Abb. 38).

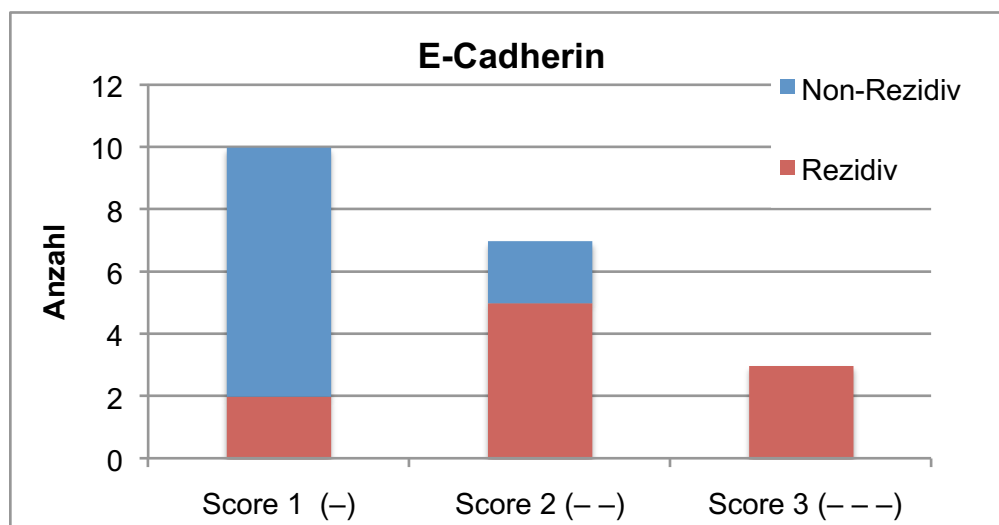


Abb. 38: Expressionsintensitäten Rezidive und Non-Rezidive für E-Cadherin (n=20)

5.5.5 Zusammenhangsanalyse Rezidive und therapiebezogene Parameter

5.5.5.1 Residualtumoren

Bei Betrachtung des Gesamtkollektivs ergab sich in 103 Fällen eine R0-Situation.

Trotz mikroskopisch gesicherter Tumorfreiheit in den Schnitträndern trat in 9,7% (n=10) der Fälle ein Rezidiv auf.

Von den insgesamt 138 Fällen, bei denen ein von der R0-Situation abweichender Status diagnostiziert wurde, rezidierten 16,7% (n=23) der Fälle.

Numerisch bestehen zwar bei den Rezidiven weniger R0-Situationen nach Erstexzision, aber statistisch zeigte sich in dieser Studie trotzdem keine Signifikanz ($\chi^2=2,42$, Rezidiv R0=30,3%, Non-Rezidiv R0=44,7%, $p=0,13$).

5.5.5.2 Anzahl der Nachresektionen

Bei Betrachtung der Frage, ob multiple Nachresektionen bis zum Erreichen einer R0-Resektion einen Einfluss auf die Rezidiventwicklung haben, ergab sich, dass mehrfach nachresezierte Basalzellkarzinome signifikant häufiger rezidierten (Rezidive $t=1,03$ SD $\pm 0,5$, Non-Rezidive $t=0,69$ SD $\pm 0,4$, $p=0,03$).

5.5.5.3 Multivariate Analyse

Bei der Cox-Regression der therapiebezogenen Parameter zeigte sich kein signifikanter Unterschied für das Auftreten eines Rezidivs in Abhängigkeit des Residualtumors ($p=0,84$ OR 1,11, 95% CI 0,4-3,06) aber hinsichtlich der Anzahl Nachresektionen ($p=0,03$, OR 1,67, 95% CI 1,05-2,65).

5.5.6 Prognostische Parameter für eine Rezidiventwicklung

Um die Multivarianzanalyse zur Überprüfung der Unabhängigkeit der Risikofaktoren zu erweitern, wurden die tumorbezogenen Parameter mit jedem der patienten- und therapiebezogenen Parameter korreliert. So ergaben sich folgende Modelle:

Rezidiv~Histo*Lokalisation*Alter

Bei der Cox-Regression zeigte sich kein signifikanter Unterschied für das Auftreten eines Rezidivs in Abhängigkeit vom Alter ($p=0,79$, OR 0,99, 95% CI 0,96-1,03), der

Lokalisation ($p=0,45$, OR 0,73, 95% CI 0,33-1,65) und des Subtyps ($p=0,21$, OR 1,76, 95% CI 0,73-4,4).

Rezidiv~Histo*Lokalisation*Geschlecht

Nicht im Signifikanzbereich lagen die Geschlechterverteilung ($p=0,66$, OR 0,84, 95% CI 0,37-1,87), die Lokalisation ($p=0,46$, OR 0,73, 95% CI 0,33-1,65) und der Subtyp ($p=0,21$, OR 1,76, 95% CI 0,73-4,3).

Rezidiv~Histo*Lokalisation*Nachresektion

Als unabhängiger und prognostischer Faktor für ein Rezidiv ergab sich die Durchführung einer Nachresektion ($p=0,015$, OR 3,04, 95% CI 1,24-7,44). Bezüglich der Lokalisation ($p=0,39$, OR 0,69, 95% CI 0,31-1,57) und des Subtyps ($p=0,33$, OR 1,56, 95% CI 0,64-3,84) zeigte sich keine Signifikanz.

Rezidiv~Histo*Lokalisation* R0-Resektion

Bei der Betrachtung der von der Anzahl des R0-Status stellte sich dieser als höchst signifikant dar ($p=0,025$, OR 2,78, 95% CI 1,14-6,78). Die Lokalisation ($p=0,39$, OR 0,7, 95% CI 0,31-1,58) und der Subtyp ($p=0,29$, OR 1,61, 95% CI 0,66-3,95) zeigten jedoch keine statistische Signifikanz. So kann der Residualtumor als Risikofaktor in Bezug auf das Auftreten eines Rezidivs gewertet werden.

Rezidiv~Histo*Lokalisation*multiple Nachresektionen

Wie bereits in der univariaten Analyse konnten multiple Nachresektionen ($p=0,002$, OR 4,62, 95% CI 1,75-12,14) als Risikofaktor erkannt werden. Bei der Betrachtung der Lokalisation ($p=0,14$, OR 0,52, 95% CI 0,22-1,25) und des Subtyps ($p=0,12$, OR 2,04, 95% CI 0,83-5,04) ergab sich keine Signifikanz.

6. Diskussion

Die vorliegende Arbeit befasste sich mit der Analyse des von 2004 bis 2013 in der Klinik für Augenheilkunde des HELIOS Klinikums Erfurt chirurgisch behandelten Patientenkollektivs mit der Diagnose Basalzellkarzinom im periorbitalen Bereich. Erhöhte Inzidenzraten und steigende gesundheitsökonomische Kosten stellen an die Medizin bezüglich der Möglichkeiten einer Therapieoptimierung und Prognoseabschätzung besondere Anforderungen.

Neben retrospektiven Fragestellungen mit besonderem Fokus auf die Rezidiventwicklung sollte auch mittels immunhistochemischer Färbungen versucht werden, prognostische Bedeutungen einzelner Faktoren zu untersuchen.

In der Analyse der patientenbezogenen Parameter stellte sich ein Überwiegen des weiblichen Geschlechts mit 58,5% heraus. Die Inzidenz des Basalzellkarzinoms verzeichnete einen Häufigkeitsgipfel in der 8. Lebensdekade. Bezogen auf die Verteilung der Lokalisationen war insbesondere das Unterlid zu 69% betroffen. Histologisch fand sich der noduläre Subtyp am häufigsten. Der Durchschnitt des Größten Durchmessers lag bei 3,4 mm und der Invasionstiefe bei 1,8 mm. Der Sicherheitsabstand nach lateral betrug durchschnittlich 0,6 mm und in die Tiefe 1,0 mm.

Als Therapie der Basalzellkarzinome fand die chirurgische Exzision Anwendung. Bei 42,7% erfolgte dies als einzeitige, bei 56,4% eine mehrzeitige Operation. Die abschließende Diagnose einer R0-Resektion konnte in 99,1% der Resektionen gestellt werden. Bei 0,8% entschied man sich zu einer reinen Nachbeobachtung.

Die Nachresektionen waren vor allem am nasalen Unterlid und Lidwinkel erforderlich. Als Defektdeckung erfolgte am häufigsten ein primärer Wundverschluss.

Insgesamt betrug die Rezidivrate 13,3%. Bei den Nachresektionen kam es in 17,3% der Fälle zu einer Rezidiventwicklung. In den durchgeführten immunhistochemischen Untersuchungen zeigten die Rezidive im Gegensatz zu den Primärtumoren einen großherdigen Verlust von E-Cadherin. Die Analyse der Rezidive ergab eine Korrelation zwischen dem Auftreten von Rezidiven bei Verbleib eines Residualtumors sowie der Durchführung multipler Nachresektionen.

6.1 Patientenbezogene Parameter

In der vorliegenden Studie trat das Basalzellkarzinom im Gesamtkollektiv mit einer Dominanz des weiblichen Geschlechts auf; 58,5% (n=141) der Patienten waren weiblich, 41,5% (n=100) männlich.

Die gegenwärtige Literatur beschreibt jedoch eine höhere Inzidenz bei Männern (Rowert-Huber et al. 2007, Gulleth et al. 2010, Castori et al. 2012). Gründe hierfür scheinen an einem unterschiedlichen Sonnenverhalten und Bewusstsein für Hautveränderungen zu liegen (Wu et al. 2013). Im Zusammenhang mit der Lokalisation scheint das häufigere Auftreten bei Männern in der linken Gesichtshälfte darin begründet zu sein, dass sie vor Beginn des Zeitalters von Sonnenschutzmittel beim Autofahren der Sonne stärker ausgesetzt waren (Crowson 2006).

Die hier höhere Inzidenz beim weiblichen Geschlecht könnte zum einen an einem größeren Gesundheitsbewusstsein und stärkeren kosmetischen Ansprüchen, zum anderen aber auch an der durchschnittlich größeren Lebenserwartung der Frauen liegen. Neuere Forschungen beschreiben zwischen dem Auftreten von Basalzellkarzinomen und östrogenabhängigen Faktoren wie dem Alter bei Eintritt der Menopause und der Hormonersatztherapie im Klimakterium einen Zusammenhang (Cahoon et al. 2015).

Bei Betrachtung des Geschlechts und der Rezidive (n=33) fiel auf, dass insgesamt mehr Frauen mit 61% (n=20) von einem Rezidiv betroffen waren. Das Verhältnis von Männern und Frauen lag in dieser Untersuchung bezogen auf das Auftreten eines Rezidivs bei 1:2,5.

Die sich daraus ergebende fehlende statistische Signifikanz deckt sich auch mit den Angaben in der Literatur, in der das Geschlecht nicht als Risikofaktor für ein Rezidiv beschrieben ist. Der hier vorliegende Unterschied lässt sich höchstwahrscheinlich auf den generell höheren Anteil erkrankter Frauen mit Primärtumor im Gesamtkollektiv zurückführen.

Das Durchschnittsalter des Gesamtkollektivs zum Zeitpunkt der Operation lag bei 72 Jahren mit einem Häufigkeitsgipfel in der 8. Lebensdekade. Das Basalzellkarzinom konnte in dieser Studie als eine Erkrankung des höheren Lebensalters und erhöhten Inzidenzraten mit zunehmenden Alter bestätigt werden (Wu et al. 2013). Ein oft beschriebener Trend zur Erkrankung bei Jüngeren (Christenson et al. 2005, Gulleth et al. 2010, Hakverdi et al. 2011) konnte hingegen

nicht festgestellt werden. Der Anteil unter 40-jährigen lag mit 1,2% (n=3) unter der mit mehr als 5% angegebenen Häufigkeit (Chinem und Miot 2011).

Vergleiche der epidemiologischen Daten sind schwierig anzustellen, da Erfassungskriterien in den jeweiligen Krebsregistern der verschiedenen Länder stark variieren (Lomas et al. 2012, Asgari et al. 2013). So könnte die weltweit steigende Inzidenz teilweise an einer besseren Registrierung liegen (Arits et al. 2007).

Das durchschnittliche Alter der Betroffenen mit einem Rezidiv lag bei 71,5 Jahren und weicht nicht wesentlich vom Durchschnittsalter von 72 Jahren des Gesamtkollektivs mit einem Primärtumor ab. Es ergab sich keine statistische Signifikanz für das Auftreten eines Rezidivs in Abhängigkeit des Alters.

6.2 Tumorbezogene Parameter

Bezüglich der Lokalisation befand sich der überwiegende Anteil der Basalzellkarzinome mit 69% (n=161) am Unterlid und nasalen Lidwinkel mit 17% (n=41). Dies entspricht der Verteilung in der Literatur (Kirzhner und Jakobiec 2012, Ho et al. 2013).

In der vertikalen Einteilung war die temporale Region am seltensten mit 18% (n=41) betroffen. Da hier die UV-Belastung am höchsten ist, scheinen sich die anzahlmäßigen Unterschiede der verschiedenen periorbitalen Lokalisationen nicht durch eine hohe UV-Dosis erklären zu lassen, es werden eher anatomische Besonderheiten wie ein dünnes Epithel im Bereich des medialen Kanthus, das weniger Schutz vor UV-Strahlung bietet, diskutiert (Lindgren et al. 1998). Desweiteren können sich Basalzellkarzinome an embryologisch bedingten Fusionslinien gerade im Bereich des Unterlides einfacher ausbreiten (Granstrom et al. 1986).

In Bezug auf die Häufigkeitsverteilung zwischen linker und rechter periorbitaler Region fand sich der überwiegende Anteil der Rezidivtumoren mit 66,7% (n=22) links. Eine Erklärung findet sich wie für die Primärtumoren hierbei nur im Zusammenhang für das männliche Geschlecht, das aufgrund der Sonnenexposition beim Autofahren die linke Seite als Prädispositionsstelle aufweist (Crowson 2006).

Die Rezidive entwickelten sich vor allem in der nasalen Lidregion mit je 27,3% (n=9) am nasalen Unterlid und im nasalen Lidwinkel, die beide eine schwierige Topografie

aufweisen. Hierfür zeigte sich jedoch keine Signifikanz. Der nasale Lidwinkel ist in der Literatur zwar auch als Hochrisikobereich beschrieben (Bartos et al. 2011), aber die Einteilung der Lokalisationen der periorbitalen Region erfolgt bei vielen Autoren unterschiedlich (vgl. Hamada et al. 2005, Lindgren et al. 2000) oder wird erst gar nicht thematisiert (vgl. Geszti et al. 2013, Esser et Konen 2001), was einen Vergleich erheblich erschwert. Generell lässt sich jedoch feststellen, dass Rezidive im Kopfbereich vermehrt auftreten (Bartos et al. 2011). Die Diagnose erweist sich gerade in der periorbitalen Region als schwierig, da diese sich in tieferen Schichten entwickeln und subdermal in die Orbita ausbreiten können (Ho et al. 2013).

Am häufigsten wurde anhand der in Kapitel 2.3 beschriebenen Klassifikation der noduläre Subtyp mit 55% (n=133) diagnostiziert. Hierbei muss berücksichtigt werden, dass die Einteilung bei unterschiedlichen Autoren auch auf unterschiedlichen Klassifizierungen beruht, fast erscheinen diese subjektiv (Welsch et al. 2012). Generell zeigt sich aber ein Überwiegen der nodulären Form (Sexton et al. 1990, Miller 1991, Ho et al. 2013). Die mit 23% (n=56) der Gesamtheit der Basalzellkarzinome ausmachende nicht näher bezeichnete Form limitiert die vorliegende Untersuchung. Wenn man sie als eigene Entität berücksichtigt, liegen andere Subtypen in geringerer Inzidenz als der Wirklichkeit entsprechenden vor. Zahlenmäßig ließe sie sich am ehesten den non-aggressiven Formen (nodulär und superfiziell) zuordnen, da diese in der Literatur mit 85% angegeben sind (Tili et al. 2005) und hier die non-aggressive mit der nicht näher bezeichneten Form zusammen 81% (n=196) ausmachen.

Bei der Betrachtung der unterschiedlichen histologischen Subtypen machten die nodulären Basalzellkarzinome einen Anteil von 48% (n=16) der Rezidive aus. In der Literatur findet sich jedoch eine niedrige Rezidivrate für die noduläre Form in der periorbitalen Region (Geszti et al. 2013, Ho et al. 2013). Es sind vor allem die aggressiven Formen mit vermehrten Rezidivraten beschrieben (Spraul et al. 2000, Zimmermann und Klauß 2001, Bartos et al. 2011). Bei der Frage, ob die Prognose vom aggressiven Wachstumsverhalten abhängig ist, ergab sich in der vorliegenden Studie statistisch keine Signifikanz.

Ob nun der hier festgestellte hohe prozentuale Anteil des nodulären Basalzellkarzinoms auf dem generell vermehrten Auftreten dieser Erscheinungsform

beruht, kann nicht nachgewiesen werden. Die geringe Fallzahl und der zusätzliche Anteil von 24% der nicht näher bezeichneten Form erschweren eine Interpretation.

6.3 Tumorbezogene Parameter der Subkollektive

Im Subkollektiv 1 betrug der „Größte Durchmesser“ der Basalzellkarzinome durchschnittlich 3,4 mm mit einer Spannweite von 0,2 mm bis 7,2 mm. Die Größe wurde in der vorliegenden Studie histologisch bestimmt. Trotz seiner Bedeutung als Risikofaktor (Welsch et al. 2012) sind Vergleiche mit der Literatur erschwert, da die Größenangaben sehr unterschiedlich erfolgen. Zum einen finden sich Angaben zu präoperativen klinischen Größen (Arits et al. 2011), zum anderen werden auch postoperative Defektgrößen angegeben (Gulleth et al. 2010, Lindgren et al. 2011, Kirzhner et al. 2012). Generell sind Größenangaben nicht kontinuierlicher Dokumentationsbestandteil (Ho et al. 2013).

Die Größe scheint mit der Aggressivität zu korrelieren (Bogelund et al. 2007, Baxter et al. 2012). Bei einer Größe von über 3 cm ist das Risiko einer Metastasenbildung gegeben (Hakverdi et al. 2011). Nicht immer jedoch lässt sich eine Größendifferenz zwischen aggressiven und non-aggressiven Formen finden (Arits et al. 2011).

Die im Subkollektiv 1 durchschnittlich eher kleine Tumorgöße von 3,4 mm könnte an der Lokalisation in der periorbitalen Region liegen. In diesem Bereich werden Läsionen schneller als an anderen Lokalisationen bemerkt und können demnach bei noch geringerer Größe einer Therapie zugeführt werden.

Die „**Invasionstiefe**“ gilt ebenfalls als Risikofaktor (Welsch et al. 2012).

Im Subkollektiv 1 zeigte sich eine durchschnittliche Invasionstiefe von 1,8 mm. In der Literatur finden sich Abweichungen von 0,5 mm bis 22,13 mm (Hakverdi et al. 2011).

Die superfizielle Form zeigte in dieser Studie mit 0,2 mm die geringste Invasionstiefe. Der histologische Subtyp korreliert mit der Invasionstiefe (Welsch et al. 2012). Die größte Invasionstiefe weist die noduläre Form auf (Hakverdi et al. 2011). Dies stimmt mit der vorliegenden Studie überein, da die größte Invasionstiefe von 3,9 mm für ein noduläres Basalzellkarzinome vorlag. Der Durchschnitt für diese lag jedoch bei 1,9 mm. 14% (n=7) des Subkollektivs waren allerdings nicht näher bezeichnete Basalzellkarzinome mit einer Invasionstiefe von 2,1 mm, was die tatsächliche durchschnittliche Invasionstiefe der nodulären Form verfälschen könnte.

Die Bestimmung des „**Sicherheitsabstands**“ kann histologisch oder operativ erfolgen. Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurde er histologisch bestimmt und dabei nach lateral und in die Tiefe unterschieden.

Beim Sicherheitsabstand nach lateral lag der Durchschnitt bei 0,6 mm mit einer Spannweite von keinem Sicherheitsabstand (0 mm) bis maximal 2,3 mm.

Der Sicherheitsabstand in die Tiefe betrug im Durchschnitt 1,0 mm mit einer Spannweite von keinem Sicherheitsabstand (0 mm) bis maximal 4,5 mm.

Bezüglich einer adäquaten Tumorexzision finden sich keine Leitlinien, die auf histologischen Abmessungen basieren (Carr et al. 2007).

Der Sicherheitsabstand wird allerdings meistens operativ bestimmt (Carr et al. 2007). Prinzipiell ist die Größe des zu wählenden Sicherheitsabstandes von der Größe der Läsion abhängig und sollte unter Berücksichtigung des Vorhandenseins subklinischer Tumorausläufer bestimmt werden (Telfer et al. 2008, Gulleth et al. 2010).

Der festgelegte operative Sicherheitsabstand nach lateral wird in der Literatur mit 4 mm für non-aggressive Basalzellkarzinome und mit 4-6 mm für aggressive Formen empfohlen (Weinstein et al. 2012). Es liegen nur wenige Daten für einen Vergleich des korrekten tiefen Sicherheitsabstandes vor, da dieser von der lokalen Anatomie abhängig ist (Telfer et al. 2008).

Oft besteht eine Abweichung zwischen klinischen und histologischen Grenzen, sodass sich subklinische Tumorausläufer nicht genau lokalisieren lassen und der Chirurg den Sicherheitsabstand mitunter zu groß oder zu klein wählt. Die Größe korreliert auch mit der Wahrscheinlichkeit, eine R0-Resektion zu erreichen. So haben Sicherheitsabstände von 2mm Größe eine niedrigere Clearancerate als solche von 5 mm (Gulleth et al. 2010).

Immunhistochemische Untersuchungen mit Antikörpern spielen bei differenzialdiagnostischen Fragen (Haskell et al. 2005, Carr et al. 2007, Liersch und Schaller 2014), in der Grundlagenforschung (Sellheyer 2011) und bei prognostischen Überlegungen eine Rolle (Telfer et al. 2008, Anderson-Dockter et al. 2012, Gropper et al. 2012).

Im Subkollektiv 2 wurden Expressionsintensitäten für verschiedene Antigene in 20 Primärtumoren untersucht, von denen die Hälfte in der Beobachtungszeit der Studie rezidierte. Eine Überprüfung auf Signifikanz konnte aufgrund der geringen Fallzahl nicht durchgeführt werden und die Analyse des Subkollektivs erfolgte rein deskriptiv.

Die Expression von **ASMA** ist bei Tumoren mit einer schlechten Prognose assoziiert (Tsujino et al. 2007, Yamashita et al. 2012). Die 20 untersuchten Basalzellkarzinome zeigten in 100% der Fälle ein positives Reaktionsmuster mit unterschiedlichen Intensitäten. Vergleichend fand sich in einer Studie in 97% der Basalzellkarzinome eine positive Expression (Papanikolaou et al. 2010).

Eine ASMA-Positivität wird beim Basalzellkarzinom für ein potentiell aggressives Verhalten beobachtet (Pilloni et al. 2009, Papanikolaou et al. 2010). Dies zeigte sich auch in dieser Studie, präsentierten 42,8% (n=3) der aggressiven Formen und nur 15,4% (n=2) der non-aggressiven Basalzellkarzinome einen Score 3.

ASMA ist ein Marker der epithelialen-mesenchymalen Transition (EMT) (Papanikolaou et al. 2010, Scanlon et al. 2013). Die EMT beschreibt inter- und intrazelluläre Prozesse, bei denen Epithelzellen ihre Polarität verlieren und Adhäsionsmoleküle für Zellkontakte herunter- und mesenchymale Proteine des Cytoskeletts hochreguliert werden. ASMA ermöglicht die Invasion und korreliert zudem mit der Invasionstiefe (Papanikolaou et al. 2010, Scanlon et al. 2013).

Im Vergleich der Patienten mit Non-Rezidiven und Rezidiven konnte gezeigt werden, dass numerisch kein Unterschied in der Verteilung der Scores besteht. Grundsätzlich zeigen alle Basalzellkarzinome unabhängig ihres späteren Rezidivverhaltens eine Expression von ASMA. Die Überfunktion des SHH-Signalwegs führt durch die Aktivierung von Myofibroblasten zu einer erhöhten ASMA-Expression im Pankreaskarzinom (Bailey et al. 2008). Da dieser Signalweg ebenfalls in der Genese des Basalzellkarzinoms eine zentrale Rolle spielt (Sellheyer 2011, Milman und McCormick 2013, Liersch und Schaller 2014), ist die Ausbildung eines spezifischen Unterschiedes zwischen den Expressionsintensitäten bezüglich des Rezidivverhaltens unwahrscheinlich.

Der **Ki-67-Index** hat einen prognostischen Wert. Da Ki-67 von proliferierenden Zellen exprimiert wird, ist es ein Zeichen für Zellwachstum und wird in allen Stadien des Zellzyklus unterschiedlich hoch exprimiert (Sasaki et al. 1997). Die Tumorzellen des Basalzellkarzinoms haben eine stärkere positive Reaktion als die Zellen des Stratum germinativum der darüberliegenden Epidermis (Kirzhner et al. 2012).

Die Funktion des Ki-67 Proteins ist trotz seiner Bedeutung als Proliferationsmarker bis heute weitgehend ungeklärt (Scholzen und Gerdes 2000).

Von den 20 untersuchten Basalzellkarzinomen in dieser Studie zeigten alle eine positive Reaktion mit dem Antikörper. Die Mehrheit der Tumoren im Subkollektiv 1

präsentierte allerdings nur eine schwache bis mäßige Expression. Man könnte annehmen, durch ihr langsames und geringes Wachstum hätten Basalzellkarzinome nur eine gering ausgeprägte proliferative Aktivität. In der Literatur finden sich jedoch Hinweise, dass es durchaus eine gegenteilige gibt, die aber durch eine schnelle Apoptose zu dem für Basalzellkarzinome typischen langsamen Wachstumsverhalten führen könnte (Tilli et al. 2000). Die Expressionsintensität von Ki-67 kann, je nachdem in welcher Zellphase sich die Zelle befindet, unterschiedlich hoch ausfallen und von der Tumordicke abhängig sein (Karlsson et al. 1996). Die anatomisch bedingte geringe Invasionstiefe in der periorbitalen Region könnte eine mögliche Ursache für die schwache bis mäßige Expressionsintensität für Ki-67 im Subkollektiv 1 sein.

Im Zusammenhang mit histopathologischen Parametern ergab sich, dass Basalzellkarzinome mit einem aggressiven Verhalten im Vergleich zu den non-aggressiven Formen vermehrt den Score 3 präsentierten. In der Literatur ist Ki-67 auch als Marker für lokale Aggressivität beschrieben (Gropper et al. 2012).

Es besteht ein signifikanter Unterschied in der Expression des Ki-67 Antigens zwischen später rezidivierenden und nicht rezidivierenden Tumoren (Healy et al. 1995, Yerebakan et al. 2013). In der vorliegenden Studie stellte sich dies nicht heraus. Die verschiedenen Scores unterlagen bei Rezidiven und Non-Rezidiven einer in etwa gleichen numerischen Verteilung. Janisson-Dargaud et al. sehen keinen Zusammenhang in der Ki-67 Expression und der Rezidiventwicklung in Basalzellkarzinomen, sondern beschreiben in einer Studie durch einen Vergleich von Ki-67-Expression und DNA-Gehalt die Aneuploidie als Risikofaktor (Janisson-Dargaud et al. 2008).

Eine Dysregulation der Proliferation und Apoptose der Keratinocyten, in denen die **COX-2** der Biosynthese von Prostaglandin E₂, einem der Hauptfaktoren von Homöostase und Reparatur der Epidermis dient, kann Krebs entstehen lassen (Tripp et al. 2003).

Eine Überexpression von COX-2 ist bei anderen Tumoren mit einer schlechten Prognose beschrieben (Shirahama 2000, Zhan et al. 2013, Urban et al. 2014). In der vorliegenden Studie präsentierte die Mehrheit der Basalzellkarzinome mit 65% (n=13) eine nur schwache Expressionsintensität von COX-2. Dieser Nachweis fand sich ebenfalls in der Literatur (Akita et al. 2004). Ferner ist auch für andere nicht-melanocytären Tumoren generell eine schwache Expression von COX-2 beschrieben

(Kourelis et al. 2014). Es gibt zudem Studien, die bei anderen Tumoren zwischen einer stromalen und epithelialen Expression von COX-2 unterscheiden und vor allem dem stromalen Anteil eine prognostische Aussagekraft zuschreiben (Kourelis et al. 2014, Urban et al. 2014). Dies könnte die hier vorliegende schwache Intensität der COX-2-Expression der epithelialen Tumorzellen erklären und die Frage aufwerfen, andere Arbeiten differenzierten diesbezüglich nicht und die Anstellung eines Vergleichs erschwerte sich dadurch zusätzlich.

In Korrelation mit den histopathologischen Parametern gab es keine Unterschiede. Dies zeigte sich auch in einer Studie, in der keine Zusammenhänge zwischen der Expression von COX-2 als Biomarker und klinischen oder histologischen Merkmalen gefunden wurden (El-Khalawany und Abou-Bakr 2013).

Trotz einer beschriebenen Korrelation zwischen einer hohen COX-2-Expression und einer Rezidiventwicklung (El-Khalawany und Abou-Bakr 2013) fanden sich in dieser Studie keine Unterschiede bezüglich der Expressionsintensität zwischen den später rezidivierenden und nicht rezidivierenden Basalzellkarzinomen. Da die Exposition gegenüber UV-B-Strahlung die COX-2-Expression steigert (Tripp et al. 2003), könnte diese in Abhängigkeit der Strahlungsbelastung bzw. des Sonnenverhaltens stehen und somit generell in Basalzellkarzinomen erhöht sein und sich nicht als prognostischer Faktor für eine Rezidiventwicklung erweisen.

ED-A Fibronectin zählt ebenfalls zu den Markern der EMT (Scanlon et al. 2013) und wird der EMT-Theorie entsprechend als Matrixprotein während der Tumorgenese hochreguliert. Die erhöhte Fibrinexpression ist mit einer schlechten Prognose für Tumoren beschrieben (Nishioka et al. 1993, Steffens et al. 2012, Fernandez-Garcia et al. 2014).

Bei der immunhistochemischen Untersuchung von ED-A in der vorliegenden Studie präsentierten nur 25% (n=5) der Tumoren einen hohen Expressionsscore. Der Nachweis von Fibronectin wird allerdings kontrovers diskutiert. Da es von vielen verschiedenen Zellen produziert wird, eignet es sich nur bedingt als Biomarker (Yang et al. 2007).

Bezogen auf die prognostische Aussagekraft zeigte sich bei der Integration der histopathologischen Parameter, dass die aggressiven Formen in 57,1% (n=4) gegenüber 7,7% (n=1) der non-aggressiven Formen einen hohen Score 3 aufweisen. Die Literatur bestätigt für das aggressive Verhalten mit einer erhöhten

Fibrinexpression im Vergleich zum non-aggressiven Verhalten eine Signifikanz (De Rosa et al. 1994).

Bei der Betrachtung der Expressionsintensität in Bezug auf das Rezidivverhalten fiel auf, dass in der vorliegenden Studie vermehrt die Primärtumoren der nicht rezidivierenden Basalzellkarzinome mit 40% (n=4) gegenüber 10% (n=1) der Rezidive einen Score 3 exprimierten. Fibronectin dient als Glykoprotein der Zell-Zell-Adhäsion und der Stabilisation. Bezogen auf die vermehrte Expression bei den nicht rezidivierenden Basalzellkarzinomen könnte man annehmen, dass Fibronectin die Integrität des Tumors bewahrt und eine Rolle beim Abgrenzungsprozess spielt. So zeigte in einer Studie die lokale Applikation von Fibronectin eine reduzierte Tumorzellimplantation an den operativen Eingriffsstellen und deutete dadurch auf eine mögliche Rezidivprävention hin (Murthy et al. 1993).

E-Cadherin ist wie ASMA und Fibronectin ein Marker für EMT (Papanikolaou et al. 2010, Scanlon et al. 2013). Im Rahmen der Tumorprogression kommt es bei E-Cadherin zum Herunterregulieren des Adhäsionsmoleküls und somit zu seinem Verlust.

E-Cadherin könnte im Zusammenhang mit dem Wachstumsmuster und dem aggressiven Verhalten von Basalzellkarzinomen stehen (Pizzaro et al. 1994).

In der vorliegenden Studie reagierten alle Tumoren des Subkollektivs 2 auf eine immunhistochemische Färbung vermindert, aber nur 15% (n=3) präsentierten einen Score 3 (großherdiger Verlust). In einer früheren Studie wurde die verminderte Expression bei 92% der Basalzellkarzinome beobachtet, wovon 72% sogar einen kompletten Verlust exprimierten (Papanikolaou et al. 2010).

Die Expressionsintensitäten korrelierten nicht mit den hier untersuchten histopathologischen Parametern. In der Literatur hingegen finden sich signifikante Korrelationen des Tumorverhaltens in Bezug auf die Aggressivität und Invasivität (Pizzaro et al. 1994, Papanikolaou et al. 2010).

Die Bildung von Immunreaktivitäts-Scores wird in der Literatur sehr unterschiedlich gehandhabt, so können die Intensität der Reaktion und der prozentuale Anteil an positiven Zellen gemeinsam oder einzeln betrachtet werden. In der vorliegenden Studie wurde nur der Anteil immunoreaktiver Zellen betrachtet, was einen Vergleich der Expressionsintensitäten erschwert.

Bei der Betrachtung des Rezidivverhaltens erreichten nur die Rezidive in der vorliegenden Studie einen großherdigen Verlust von E-Cadherin. Dieser

Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Rezidiven und dem Verlust von E-Cadherin findet sich auch in der Literatur (Vanjaka-Rogosic et al. 2014). Demgegenüber zeigte keiner der später nicht-rezidivierenden Tumoren einen großherdigen Verlust von E-Cadherin. Dieser Marker könnte eine Rolle als Invasionssuppressor spielen, da Moleküle im Tumorstroma beschrieben sind, die das Wachstum behindern können und durch eine Hemmung dieser Stromalen Antwort ein aggressiveres Verhalten und eine Progression induziert wird (Pizzaro et al. 1994, Rhim et al. 2014).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass momentan keine prospektive Studie existiert, die einen starken Zusammenhang von Expressionsmarkern und Basalzellkarzinomen beweist. Bei der Literatursuche fanden sich ausreichend Autorengruppen (Pizarro et al. 1994, Papanikolaou et al. 2010, Anderson-Dockter et al. 2012), die zu dieser Thematik Untersuchungen durchgeführt haben. Eine klare Korrelation für die Marker und die Expression oder gar ein Goldstandard zeichnet sich allerdings nicht ab, weil die Studien zum Teil erhebliche Limitationen aufweisen. Die verschiedenen Expressionsintensitäten in der Literatur variieren zunächst durch die Sensitivitäten der verwendeten Methoden (Western Blot, RT-PCR, Immunhistochemie).

Des Weiteren sind die immunhistochemischen Analysen zu einem großen Anteil von den verwendeten Antikörpern abhängig, bereits Unterschiede in der Fixierung und Einbettung des histologischen Materials können ein Grund für Abweichungen der vorliegenden Studie mit der Literatur sein. Unterschiedliche Algorithmen der Scores (Papanikolaou et al. 2010), die subjektive Auswertung der Färbungen und die differenzierte Betrachtung der Expressionsintensitäten von Stroma und Tumorzellen, wie bei nachstehenden Autoren hervorgehoben, sind weitere wichtige Faktoren (Kourelis et al. 2014, Urban et al. 2014).

Zudem erfolgen viele Untersuchungen direkt an den Rezidivtumoren und nicht wie hier an den Primärtumoren. Auch könnten die in der vorliegenden Studie als „später nicht-rezidivierende“ bezeichneten Basalzellkarzinome nach Abschluss der Datenerhebung rezidiviert haben.

Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse in der vorliegenden Studie mit der Literatur wurde zudem erschwert, da die Fallzahl des untersuchten Subkollektivs 2 (n=20) nur sehr gering war und die Analyse rein deskriptiv erfolgte.

6.4 Therapiebezogene Parameter

Die periorbitale Region weist morphologische Besonderheiten auf und Eingriffe in diesem Bereich erfolgen meist restriktiv, um funktionelle und ästhetische Schäden gering zu halten. Diese knappen Exzisionen führen jedoch zu einem vermehrten Auftreten von Residualtumoren. In dieser Untersuchung wurden insgesamt 42,7% (n=103) der Basalzellkarzinome bei Erstexzision komplett entfernt. Dies ist ein der Literatur entsprechendes Ergebnis, die R0-Resektionen von Basalzellkarzinomen ohne intraoperative Schnellschnittkontrolle mit einer Rate von 47,6% angibt (Spraul et al. 2000). Erfolgsraten sind von der Erfahrung des Operateurs, dem Tumor, seiner Lokalisation, dem Subtyp und der Größe, sowie seinem Rezidivverhalten abhängig (Goldberg 1996).

Im Zusammenhang mit den histologischen Subtypen ergaben sich in der vorliegenden Untersuchung keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Tumorfreiheit bei Erstexzision. Auffällig war allerdings, dass das superfizielle Basalzellkarzinom nur zu 14,3% (n=1) vollständig bei Erstexzision reseziert werden konnte. Ein Grund hierfür könnten die weit ausgebreiteten Tumorausläufer dieser Form sein (Crowson 2006), die dem Operateur die Abgrenzung gegenüber gesundem Gewebe erschweren (Carr et al. 2007).

Bei der Betrachtung der Lokalisationen zeigte sich, dass vor allem der nasale Lidwinkel und das nasale Unterlid mit ungefähr 60% nicht vollständig bei Erstexzision reseziert werden konnten. Im Bereich des nasalen Oberlides und des temporalen Lidwinkels hingegen ergab sich nur in 33,3% der Fälle eine R1-Situation. Der Grund könnte in der meist aufwendigeren Rekonstruktion des nasalen Lidwinkels und nasalen Unterlids liegen, weshalb Exzisionen hier besonders sparsam erfolgen (Spraul et al. 2000). Ermöglicht werden diese knappen Resektionen durch eine anschließende histologische Aufarbeitung der Schnittträger (Teltzrow 2010), diese finden sich periorbital häufiger als an anderen Regionen des Gesichts (Hakverdi et al. 2011).

Die Frage nach der Notwendigkeit einer Nachresektion stellt sich allerdings, wenn man Studien berücksichtigt, die nicht in allen Nachexzisierten Tumoranteile finden, sondern nur in einem geringen Anteil (Hamada et al. 2005, Patel et al. 2013). Dieser Unterschied zwischen Tumorfreiheit trotz Residualtumors könnte durch eine exakt im Grenzbereich des Tumors liegende Schnittführung verursacht sein (Gulleth et al.

2010), aber auch eine die Detektion von Tumorzellen erschwerende postoperative Entzündungsreaktion wird diskutiert.

In der vorliegenden Arbeit erfolgte in 55,2% (n= 133) der Fälle eine Nachresektion. Um einer Rezidiventwicklung vorzubeugen ist die weitere chirurgische Intervention bis zum Erreichen von Tumorfreiheit in den Schnitträndern indiziert (Goldberg 1996, Sommer 2008, Ho et al. 2013). Eine inadäquate Exzision kann darüber hinaus aber auch zu Komplikationen wie extensiver Gewebedestruktion, Einbruch in tiefere Gewebsschichten und im periorbitalen Bereich zu einer Zerstörung der ableitenden Tränenwege führen (Esser und Kronen 2001, Gulleth et al. 2012). Unbehandelt kann die Erkrankung den Bulbus befallen und eine Exenteratio orbitae erforderlich machen (Baxter et al. 2012).

Um einen R0-Status zu erreichen, sind zum Teil mehrere Nachresektionen notwendig, diese erfolgten in 13,7% (n=33) mit mehr als zwei Nachresektionen. In der Literatur finden sich für multiple Nachresektionen Angaben von 8,7% (Ho et al. 2013). Ein Vergleich der Anzahl der Nachresektionen wird jedoch dadurch erschwert, dass bei vielen Veröffentlichungen die Primärexzision mit klinischen Sicherheitsabständen erfolgte, die das generelle Risiko eines Residualtumors senken (Hamada et al. 2005, Gulleth et al. 2010, Yin et al. 2012) und dementsprechend auch die Anzahl der notwendigen Nachresektionen vermindern.

Bei Vorliegen einer primären R0-Situation ist das Risiko einer Rezidiventwicklung minimal bis nicht existent (Sigurdsson und Agnarsson 1998).

In dieser Studie entwickelte sich jedoch in 9,7% (n=10) der Fälle trotz histologisch gesicherter R0-Situation ein Rezidiv. Diese falsch-negative Bewertung könnte als ein Maß der Qualität der histologischen Aufbereitungsmethode gewertet werden. 3D-Histologien weisen grundsätzlich niedrige Rezidivraten auf. Die von Frederick Moh als mikrographische Operation (MMS) beschriebene Technik wird in der Literatur sehr unterschiedlich betrachtet. Zum einen wird sie besonders am Auge als etablierte Methode beschrieben (Bartos et al. 2011, Hauschild et al. 2013), zum anderen wird sie aber wegen ihrer aufwendigen Aufbereitung kaum noch durchgeführt (Schubert 2000, Teltzrow 2010). Allerdings können auch ohne die mikrographische Chirurgie niedrige Rezidivraten erreicht werden (Hamada et al. 2005).

Die Beurteilung der Schnittränder kann mitunter schwierig sein, sie ist keine perfektionierte Wissenschaft (Weinstein et al. 2012). Nicht zuletzt könnten immunhistochemische Färbungen mit Cytokeratin 17 dabei helfen, Tumorzellen im

Schnitttrand zu detektieren (Anderson-Dockter et al. 2012). Eine Beurteilung, ob und in welcher Anzahl falsche Diagnosen bezüglich des Residualtumors gestellt werden, lässt sich nur sehr schwer anstellen (Spraul et al. 2009).

Ein reseziertes Basalzellkarzinom mit mikroskopisch nachweisbaren Tumorzellen in den Schnittträndern weist eine durchschnittliche Rezidivrate von 27% auf (Gulleth et al. 2010). Zur Rezidivprophylaxe wurden in der vorliegenden Studie Nachresektionen bis zur histologisch bestätigten Tumorfreiheit durchgeführt, sodass ein diesbezüglicher Vergleich nicht möglich ist.

Durch anschließend durchgeführte Nachresektionen lässt sich das Rezidivrisiko trotzdem nicht auf die Rezidivrate von primär R0-resezierten Basalzellkarzinomen senken (Zimmermann und Klauß 2001). In der vorliegenden Studie war von Interesse, ob eine nachträgliche chirurgische Intervention eine direkte Auswirkung auf die Entwicklung von Rezidiven hat. 136 der Tumoren wiesen nach der Erstexzision positive Schnitttränder auf, von denen 133 nachreseziert wurden. Von diesen nachresezierten Basalzellkarzinomen entwickelte sich in 17,3% (n=23) der Fälle ein Rezidiv. Hierfür zeigte sich keine Signifikanz.

In 8 Fällen musste mehr als einmal nachreseziert werden, für das Auftreten eines Rezidivs in Abhängigkeit der Anzahl der Nachresektionen ergab sich eine statistische Signifikanz ($p=0,03$).

Wie bereits erwähnt, wird in der Literatur die Notwendigkeit einer Nachresektion zur Rezidivprophylaxe kontrovers diskutiert. Es gibt Daten, die zeigen, dass trotz positiver Schnitttränder die Mehrheit der Patienten kein Rezidiv entwickelt (Spraul et al. 2000, Gulleth et al. 2010). Da in der vorliegenden Studie das Therapieziel der R0-Situation bei der Mehrzahl der Patienten durch Nachresektionen erreicht wurde, lässt sich hier kein signifikanter Vergleich anstellen. Diese These unterstützend waren allerdings 3 Patienten, die trotz histologisch gesicherter R1-Situation keiner Nachresektion zugeführt wurden und bei denen es während einer Nachbeobachtungszeit von 73, 83 und 99 Monaten in keinem der Fälle einen Anhalt für ein Rezidiv gab.

Von zusätzlicher Bedeutung ist auch die Frage, nach welchen Maßstäben die histologische Diagnose erfolgt. Es ist nicht ganz eindeutig, ob bei der Definition des Begriffs eines Residualtumors die mikroskopischen Tumorreste mit einem makroskopischen Tumorrest im Gewebe gleichzusetzen sind. Auch wird in der

Literatur zwischen intraläsionalen und marginalen Tumorresten in den Schnittträndern differenziert und nur im Zusammenhang mit den ersteren ein hohes Rezidivrisiko gesehen (Sigurdsson und Agnarsson 1998). Nicht zuletzt wird sogar extrem kleinen histologischen Sicherheitsabständen eine wahrscheinliche Rezidivprophylaxe zugeschrieben und die Notwendigkeit einer Nachresektion in Abhängigkeit des histologischen Subtyps betrachtet (Auw-Hädrich et al. 2009).

Ziel sollte stets das Erreichen der Tumorfreiheit mit möglichst wenigen Eingriffen sein, da es bei jeder Intervention, auch bei Biopsien, zu einem Verlust von Informationen kommen kann (Teltzrow 2010) und selbst große Defekte mit einem guten Ergebnis rekonstruierbar sind (Sommer 2008).

Vor einer solchen Rekonstruktion muss eine histologisch bestätigte Tumorfreiheit vorliegen (Beyer-Machule 1991, Rene 2013), was auch im Gesamtkollektiv durch eine mehrzeitige Operation sichergestellt wurde. Für eine Deckung finden sich vielzählige Möglichkeiten, die zu einem guten funktionellen und ästhetischen Ergebnis führen können (Gonnermann et al. 2014, Hübner 2014).

In der vorliegenden Arbeit erfolgte der größte Anteil der durchgeführten Deckungen mit 41% (n=100) als primärer Wundverschluss und mit 30% (n=73) als Laissez-Faire-Technik. Bei kleinen Defekten sind diese Rekonstruktionsverfahren durchaus üblich (Rene 2013), die chirurgische Primärdeckung zur Herstellung der physiologischen Lidkonfiguration im Hinblick auf Ästhetik und Schutz sollte jedoch bevorzugt werden (Esser und Kronen 2001). Der Vorteil von den vergleichsmäßig einfachen Deckungstechniken des Laissez-Faire und primären Wundverschlusses liegt zum einen in einer geringeren Belastung für den Patienten, zum anderen aber kann auch ein Rezidiv früher erkannt werden, erschweren doch dickere Transplantate die Früherkennung (Lindgren et al. 2000).

Seltener wurden komplizierte Deckungstechniken wie gestielte Transplantate 22% (n=52) oder freie Transplantate 5% (n=11) angewandt, die mit größeren Komplikationsraten einhergehen können (Lindgren et al. 2000, Hamada et al. 2005). Bei tiefsitzenden und in angrenzende Gewebe eingebrochenen Tumoren bietet sich die interdisziplinäre Zusammenarbeit mit der Kieferchirurgie, Dermatologie oder HNO-Heilkunde an (Esser und Kronen, 2001). Dies war hier in 2% (n=5) der Fälle notwendig.

Ein bewertender Vergleich der verschiedenen Verfahren wird durch in den Studien fehlende Bewertungskriterien erschwert (Esser und Kronen 2001).

Auch für die Häufigkeiten der verwendeten Deckungsverfahren lassen sich keine aussagekräftigen Vergleiche anstellen, da die zu wählende Methode von zahlreichen Faktoren wie Lokalisation und Größe des Defekts, Können des Operators, aber auch vom Patientenwunsch abhängig ist.

6.5 Prognostische Parameter

Abschließend lässt sich feststellen, dass die Rezidiventwicklung des Basalzellkarzinoms ein signifikantes Problem darstellt. So finden sich in der Literatur Rezidivraten von 9,5% (Spraul et al. 2000) und auch in der vorliegenden Studie ist die Rezidivrate des Gesamtkollektivs mit 13,3% relativ deutlich.

In der vorliegenden Studie zeigte sich, dass die Rezidiventwicklung in Zusammenhang mit dem Vorkommen eines Residualtumors und der Durchführung multipler Nachresektionen steht. So sollte bei der chirurgischen Therapie eine R0-Situation bei Erstexzision angestrebt werden.

Grundsätzlich ist die Rezidiventwicklung eines Basalzellkarzinoms jedoch von vielen tumor- und patientenbezogenen Faktoren abhängig und der prognostische Wert der klassischen klinischen und histologischen prognostischen Faktoren ist limitiert (Janisson-Dargaud et al. 2008).

Es wird eine Nachbeobachtungszeit von fünf Jahren empfohlen (Granstrom et al. 1986, Zimmermann und Klauß 2001, Ho et al. 2013). Da geschätzte 40-50% der Operierten mit einem Primärtumor innerhalb von fünf Jahren mindestens einen oder mehrere weitere Basalzellkarzinome entwickeln (Madan et al. 2010) und für manche das Follow-Up ein Problem darstellt, sollten Patienten zu einer Selbstuntersuchung angeleitet werden. Auch eine Rezidiventwicklung nach Abschluss der Nachbeobachtungszeit könnte so erkannt werden.

Das Basalzellkarzinom wächst langsam aber stetig und wird dadurch rechtzeitig entdeckt, so dass der Nutzen in Form eines Screenings in Frage gestellt werden kann (Weymayr 2016).

Der Einsatz immunhistochemischer Methoden im klinischen Routinealltag scheint eher in grenzwertigen Fällen sinnvoll, wenn aufgrund des Mangels an aussagekräftiger histopathologischer Merkmale die Diagnostik eines Basalzellkarzinoms erschwert ist (Haskell et al. 2005, Carr et al. 2007, Liersch und Schaller 2014). Die Evaluation der immunhistochemischen Analyse bezüglich ihrer

Auswirkungen auf die prognostische Aussagekraft und ihrer Praktikabilität ist nicht mehr Bestandteil dieser Arbeit, sondern könnte ein Ansatzpunkt zukünftiger Studien sein.

7. Schlussfolgerungen

„Nonmelanotic skin cancer and solar keratoses. The quiet 20th century epidemic.“ (Marks 1983). Mit weltweit steigenden Inzidenzraten und einer höheren Lebenserwartung stellt das Basalzellkarzinom als nicht-melanocytärer Hautkrebs auch heute noch eine Belastung in unserer Gesellschaft dar. Durch neue Erkenntnisse im Bereich der Molekulargenetik eröffnen sich weitere Therapiemöglichkeiten und machen das Basalzellkarzinom zum Gegenstand aktueller Diskussionen. Trotz oraler Therapie mit SHH-Inhibitoren oder auch den topischen nicht-invasiven Immuntherapien bildet die chirurgische Exzision mit anschließender histologischer Aufarbeitung nach wie vor den Goldstandard.

Als eines der Hauptprobleme gilt seine Rezidiventwicklung. Sie steht im Zusammenhang mit dem Vorkommen eines Residualtumors und der Durchführung multipler Nachresektionen, weshalb eine R0-Situation bei Erstexzision angestrebt werden sollte.

Grundsätzlich ist die Rezidiventwicklung jedoch von vielen tumor- und patientenbezogenen Faktoren abhängig und eine Prognose demnach nur begrenzt möglich. Die prognostische Aussagekraft immunhistochemischer Methoden ist ebenfalls limitiert. Der starke Verlust von E-Cadherin könnte ein Hinweis für eine spätere Rezidiventwicklung sein, eine Signifikanz konnte allerdings aufgrund der geringen Fallzahl der vorliegenden Studie nicht festgestellt werden. Es existiert aktuell keine standardisierte Vorgehensweise bei der Beurteilung von Expressionsanalysen, dies könnte ein Ziel weiterer Studien sein.

Es sollte eine Nachbeobachtungszeit von 5 Jahren erfolgen. Neben dem Auftreten von Rezidiven müssen dabei auch neue Läsionen kontrolliert werden. Durch das langsame Wachstumsverhalten kann die Früherkennung zudem durch eine unterstützende Selbstuntersuchung des Patienten erfolgen. Basalzellkarzinome haben bei rechtzeitiger und adäquater Therapie eine gute Prognose.

8. Literatur-und Quellenverzeichnis

- Akita Y, Kozaki K, Nakagawa A, Saito T, Ito S, Tamada Y, Fujiwara S, Nishikawa N, Uchida K, Yoshikawa K, Noguchi T, Miyaishi O, Shimozaoto K, Saga S, Matsumoto Y. 2004. Cyclooxygenase-2 is a possible target of treatment approach in conjunction with photodynamic therapy for various disorders in skin and oral cavity. *Br J Dermatol*, 151 (2):472-480.
- Anderson-Dockter H, Clark T, Iwamoto S, Fiore D, Falanga JK, Falanga V. 2012. Diagnostic utility of cytokeratin 17 immunostaining in morpheaform basal cell carcinoma for facilitating the detection of tumor cells at the surgical margins. *Dermatologic surgery : official publication for American Society for Dermatologic Surgery [et al]*, 38 (8):1357-1366.
- Arits AH, Schlangen MH, Nelemans PJ, Kelleners-Smeets NW. 2011. Trends in the incidence of basal cell carcinoma by histopathological subtype. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 25 (5):565-569.
- Asgari MM, Eide MJ, Warton EM, Fletcher SW. 2013. Validation of a large Basal cell carcinoma registry. *J Registry Manag*, 40 (2):65-69.
- Auw-Haedrich C, Frick S, Boehringer D, Mittelviefhaus H. 2009. Histologic safety margin in basal cell carcinoma of the eyelid: correlation with recurrence rate. *Ophthalmology*, 116 (4):802-806.
- Bailey JM, Swanson BJ, Hamada T, Eggers JP, Singh PK, Caffery T, Ouellette MM, Hollingsworth MA. 2008. Sonic hedgehog promotes desmoplasia in pancreatic cancer. *Clin Cancer Res*, 14 (19):5995-6004.
- Bartos V, Pokorny D, Zacharova O, Haluska P, Doboszova J, Kullova M, Adamicova K, Pec M, Pec J. 2011. Recurrent basal cell carcinoma: a clinicopathological study and evaluation of histomorphological findings in primary and recurrent lesions. *Acta Dermatovenereol Alp Panonica Adriat*, 20 (2):67-75.
- Baxter JM, Patel AN, Varma S. 2012. Facial basal cell carcinoma. *BMJ*, 345.
- Beyer-Machule CK. 1991. Bevorzugte Techniken der Lidrekonstruktion. *Klin Monatsbl Augenheilkd*, 198 (02):75-80.
- Bogelund FS, Philipsen PA, Gniadecki R. 2007. Factors affecting the recurrence rate of basal cell carcinoma. *Acta Derm Venereol*, 87 (4):330-334.
- Boone MA, Norrenberg S, Jemec GB, Del Marmol V. 2012. Imaging of basal cell

- carcinoma by high-definition optical coherence tomography: histomorphological correlation. A pilot study. *Br J Dermatol*, 167 (4):856-864.
- Bordianu A, Florescu IP, Muresan A, Bernad E, Craina M, Sargan I. 2013. Anatomico-clinical aspects of the basal cell carcinoma at the level of the cephalic end. *Rom J Morphol Embryol*, 54 (3):609-612.
- Borsi L, Carnemolla B, Castellani P, Rosellini C, Vecchio D, Allemanni G, Chang SE, Taylor-Papadimitriou J, Pande H, Zardi L. 1987. Monoclonal antibodies in the analysis of fibronectin isoforms generated by alternative splicing of mRNA precursors in normal and transformed human cells. *J Cell Biol*, 104 (3):595-600.
- Buljan M, Bulat V, Situm M, Mihic LL, Stanic-Duktaj S. 2008. Variations in clinical presentation of basal cell carcinoma. *Acta Clinica Croatica*, 47 (1):25-30.
- Cahoon EK, Kitahara CM, Ntowe E, Bowen EM, Doody MM, Alexander BH, Lee T, Little MP, Linet MS, Freedman DM. 2015. Female Estrogen-Related Factors and Incidence of Basal Cell Carcinoma in a Nationwide US Cohort. *J Clin Oncol*, 33 (34):4058-4065.
- Carr RA, Taibjee SM, Sanders DSA. 2007. Basaloid skin tumours: Basal cell carcinoma. *Current Diagnostic Pathology*, 13 (4):252-272.
- Castori M, Morrone A, Kanitakis J, Grammatico P. 2012. Genetic skin diseases predisposing to basal cell carcinoma. *Eur J Dermatol*, 22 (3):299-309.
- Chan AO, Lam SK, Chu KM, Lam CM, Kwok E, Leung SY, Yuen ST, Law SY, Hui WM, Lai KC, Wong CY, Hu HC, Lai CL, Wong J. 2001. Soluble E-cadherin is a valid prognostic marker in gastric carcinoma. *Gut*, 48 (6):808-811.
- Chinem VP, Miot HA. 2011. Epidemiology of basal cell carcinoma. *An Bras Dermatol*, 86 (2):292-305.
- Christenson LJ, Borrowman TA, Vachon CM, et al. 2005. INCidence of basal cell and squamous cell carcinomas in a population younger than 40 years. *JAMA*, 294 (6):681-690.
- Cigna E, Tarallo M, Maruccia M, Sorvillo V, Pollastrini A, Scuderi N. 2011. Basal cell carcinoma: 10 years of experience. *J Skin Cancer*, 2011:476362.
- Crowson AN. 2006. Basal cell carcinoma: biology, morphology and clinical implications. *Mod Pathol*, 19 Suppl 2:S127-147.
- De Rosa G, Barra E, Guarino M, Staibano S, Donofrio V, Boscaino A. 1994. Fibronectin, laminin, type IV collagen distribution, and myofibroblastic stromal

- reaction in aggressive and nonaggressive basal cell carcinoma. *Am J Dermatopathol*, 16 (3):258-267.
- De Wever O, Demetter P, Mareel M, Bracke M. 2008. Stromal myofibroblasts are drivers of invasive cancer growth. *Int J Cancer*, 123 (10):2229-2238.
- Dissemond J, Grabbe S. 2004. Basalzellkarzinome - Ein Überblick. *Dtsch med Wochenschr* 129 (42):2255–2260.
- Dorudi S, Hanby AM, Poulsom R, Northover J, Hart IR. 1995. Level of expression of E-cadherin mRNA in colorectal cancer correlates with clinical outcome. *British Journal of Cancer*, 71 (3):614-616.
- El-Khalawany MA, Abou-Bakr AA. 2013. Role of cyclooxygenase-2, ezrin and matrix metalloproteinase-9 as predictive markers for recurrence of basal cell carcinoma. *J Cancer Res Ther*, 9 (4):613-617.
- Esser P, Konen W. 2001. Therapie von Basaliomen der Lidregion. *Dtsch Arztebl International*, 98 (1-2):35-38.
- Fernandez-Garcia B, Eiro N, Marin L, Gonzalez-Reyes S, Gonzalez LO, Lamelas ML, Vizoso FJ. 2014. Expression and prognostic significance of fibronectin and matrix metalloproteases in breast cancer metastasis. *Histopathology*, 64 (4):512-522.
- Geszti F, Hargitai D, Lukats O, Gyorffy H, Toth J. 2013. Basalzellkarzinome des periokulären Bereichs. *Der Pathologe*, 34 (6):552–557.
- Gill HS, Moscato EE, Chang AL, Soon S, Silkiss RZ. 2013. Vismodegib for Periocular and Orbital Basal Cell Carcinoma. *JAMA Ophthalmol*, 131(12):1591-1594.
- Goldberg LH. 1996. Basal cell carcinoma. *The Lancet*, 347 (9002):663-667.
- Gonnermann J, von Sonnleithner C, Bertelmann E. 2014. Neubildungen der Lider und chirurgische Rekonstruktionen. *Klin Monatsbl Augenheilkd*, 231 (11):1127-1142.
- Göppner D, Leverkus M. 2011. Basal Cell Carcinoma: From the Molecular Understanding of the Pathogenesis to Targeted Therapy of Progressive Disease. *Journal of Skin Cancer*, 2011;2011:650258.
- Granstrom G, Aldenborg F, Jeppsson PH. 1986. Influence of embryonal fusion lines for recurrence of basal cell carcinomas in the head and neck. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 95 (1):76-82.
- Gropper AB, Girouard SD, Hojman LP, Huang SJ, Qian X, Murphy GF, Vleugels RA. 2012. Metastatic basal cell carcinoma of the posterior neck: case report and

- review of the literature. *Journal of Cutaneous Pathology*, 39 (5):526-534.
- Gulleth Y, Goldberg N, Silverman RP, Gastman BR. 2010. What is the best surgical margin for a Basal cell carcinoma: a meta-analysis of the literature. *Plast Reconstr Surg*, 126 (4):1222-1231.
- Hakverdi S, Balci DD, Dogramaci CA, Toprak S, Yaldiz M. 2011. Retrospective analysis of basal cell carcinoma. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, 77 (2):251.
- Hamada S, Kersey T, Thaller VT. 2005. Eyelid basal cell carcinoma: non-Mohs excision, repair, and outcome. *Br J Ophthalmol*, 89 (8):992-994.
- Haskell HD, Haynes HA, McKee PH, Redston M, Granter SR, Lazar AJF. 2005. Basal cell carcinoma with matrical differentiation: a case study with analysis of β -catenin*. *Journal of Cutaneous Pathology*, 32 (3):245-250.
- Hauschild A, Breuninger H, Kaufmann R, Kortmann R-D, Klein M, Werner J, Reifemberger J, Dirschka T, Garbe C. 2013. S2k Kurzleitlinie – Basalzellkarzinom der Haut. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 11 (s3):11-16.
- Healy E, Angus B, Lawrence CM, Rees JL. 1995. Prognostic value of Ki67 antigen expression in basal cell carcinomas. *Br J Dermatol*, 133 (5):737-741.
- Heenan PJ, Elder D, Sobin LH. 2012. *Histological Typing of Skin Tumours*. Springer Berlin Heidelberg.
- Hinz B, Celetta G, Tomasek JJ, Gabbiani G, Chaponnier C. 2001. Alpha-smooth muscle actin expression upregulates fibroblast contractile activity. *Mol Biol Cell*, 12 (9):2730-2741.
- Ho SF, Brown L, Bamford M, Sampath R, Burns J. 2013. 5 years review of periocular basal cell carcinoma and proposed follow-up protocol. *Eye (Lond)*, 27 (1):78-83.
- Hübner H. 2014. Lidrekonstruktion: funktionelle und ästhetische Aspekte. *Klin Monatsbl Augenheilkd*, 231 (01):17-27.
- Jacob A. 1827. Observations respecting an ulcer of Peculiar Character which Attacks the Eyelid an Other Parts of the Face. *Rep Commun Med Surg*. 1827 (4):232-239.
- Janisson-Dargaud D, Durlach A, Lorenzato M, Grange F, Bernard P, Birembaut P. 2008. Aneuploidy, but not Ki-67 or EGFR expression, is associated with recurrences in basal cell carcinoma. *J Cutan Pathol*, 35 (10):916-921.

- Jeschke U, Mylonas I, Kuhn C, Shabani N, Kunert-Keil C, Schindlbeck C, Gerber B, Friese K. 2007. Expression of E-cadherin in human ductal breast cancer carcinoma in situ, invasive carcinomas, their lymph node metastases, their distant metastases, carcinomas with recurrence and in recurrence. *Anticancer Res*, 27 (4A):1969-1974.
- Karlsson M, Boeryd B, Carstensen J, Franlund B, Gustafsson B, Kagedal B, Sun XF, Wingren S. 1996. Correlations of Ki-67 and PCNA to DNA ploidy, S-phase fraction and survival in uveal melanoma. *Eur J Cancer*, 32A (2):357-362.
- Kasper M, Jaks V, Hohl D, Toftgård R. 2012. Basal cell carcinoma — molecular biology and potential new therapies. *The Journal of Clinical Investigation*, 122 (2):455-463.
- Khalesi M, Whiteman DC, Tran B, Kimlin MG, Olsen CM, Neale RE. 2013. A meta-analysis of pigmentary characteristics, sun sensitivity, freckling and melanocytic nevi and risk of basal cell carcinoma of the skin. *Cancer Epidemiol*, 37 (5):534-543.
- Kirzhner M, Jakobiec FA. 2012. Clinicopathologic and Immunohistochemical Features of Pigmented Basal Cell Carcinomas of the Eyelids. *American Journal of Ophthalmology*, 153 (2):242-252.
- Kohan M, Muro AF, White ES, Berkman N. 2010. EDA-containing cellular fibronectin induces fibroblast differentiation through binding to alpha4beta7 integrin receptor and MAPK/Erk 1/2-dependent signaling. *FASEB J*, 24 (11):4503-4512.
- Kourelis K, Vondoros G, Kourelis T, Papadas T, Goumas P, Sotiropoulou-Bonikou G. 2009. Low COX2 in tumor and upregulation in stroma mark laryngeal squamous cell carcinoma progression. *Laryngoscope*, 119 (9):1723-1729.
- Krompecher E. 1903. *Der Basalzellenkrebs*. Jena: Gustav-Fischer-Verlag.
- Lear JT, Tan BB, Smith AG, Bowers W, Jones PW, Heagerty AH, Strange RC, Fryer AA. 1997. Risk factors for basal cell carcinoma in the UK: case-control study in 806 patients. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 90 (7):371-374.
- LeBoit PE, Burg G., Weedon D, Sarasain A. (Eds.). 2006. *Pathology and Genetics of Skin Tumours*. IARC Press.
- Liersch J, Schaller J. 2014. Das Basalzellkarzinom und seine seltenen Formvarianten. *Der Pathologe*, 35 (5):433-442.
- Lindgren G, Diffey B, Larko O. 1998. Basal cell carcinoma of the eyelids and solar

- ultraviolet radiation exposure. *The British Journal of Ophthalmology*, 82 (12):1412-1415.
- Lindgren G, Lindblom B, Bratel AT, Molne L, Larko O. 2000. Mohs' micrographic surgery for basal cell carcinomas on the eyelids and medial canthal area. I. Characteristics of the tumours and details of the procedure. *Acta Ophthalmol Scand*, 78 (4):425-429.
- Lomas A, Leonardi-Bee J, Bath-Hextall F. 2012. A systematic review of worldwide incidence of nonmelanoma skin cancer. *Br J Dermatol*, 166 (5):1069-1080.
- Madan V, Lear JT, Szeimies R-M. 2010. Non-melanoma skin cancer. *The Lancet*, 375 (9715):673-685.
- Mallory FB. 1910. REcent progress in the microscopic anatomy and differentiation of cancer. *Journal of the American Medical Association*, 55 (18):1513-1516.
- Maloney ME, Jones DB, Mack Sexton F. 1992. Pigmented basal cell carcinoma: Investigation of 70 cases. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 27 (1):74-78.
- Marasa L, Marasa S, Sciancalepore G. 2008. Collagen IV, laminin, fibronectin, vitronectin. Comparative study in basal cell carcinoma. Correlation between basement membrane molecules expression and invasive potential. *G Ital Dermatol Venereol*, 143 (3):169-173.
- Marks R. 1987. Nonmelanotic skin cancer and solar keratoses. The quiet 20th century epidemic. *Int J Dermatol*, 26 (4):201-205.
- Marsh D, Suchak K, Moutasim KA, Vallath S, Hopper C, Jerjes W, Upile T, Kalavrezos N, Violette SM, Weinreb PH, Chester KA, Chana JS, Marshall JF, Hart IR, Hackshaw AK, Piper K, Thomas GJ. 2011. Stromal features are predictive of disease mortality in oral cancer patients. *J Pathol*, 223 (4):470-481.
- McCormack CJ, Kelly JW, Dorevitch AP. 1997. Differences in age and body site distribution of the histological subtypes of basal cell carcinoma. A possible indicator of differing causes. *Arch Dermatol*, 133 (5):593-596.
- Meythaler H. 1973. Zum Differenzierungsverhalten der Basaliome der Lider und ihrer Umgebung. *Albrecht von Graefes Archiv für klinische und experimentelle Ophthalmologie*, 187 (2):111-130.
- Miller DL, Weinstock MA. 1994. Nonmelanoma skin cancer in the United States: incidence. *J Am Acad Dermatol*, 30 (5 Pt 1):774-778.

- Miller SJ. 1991. Biology of basal cell carcinoma (Part I). *Journal of the American Academy of Dermatology*, 24 (1):1-13.
- Milman T, McCormick S. 2013. The molecular genetics of eyelid tumors: recent advances and future directions. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 251 (2):419-433.
- Misago N, Suse T, Uemura T, Narisawa Y. 2004. Basal Cell Carcinoma with Sebaceous Differentiation. *The American Journal of Dermatopathology*, 26 (4):298-303.
- Murthy MS, Scanlon EF, Silverman RH, Goodheart CR, Goldschmidt RA, Jelachich ML. 1993. The role of fibronectin in tumor implantation at surgical sites. *Clin Exp Metastasis*, 11 (2):159-173.
- Nékám L. 1901. Basalioma adenoides cysticum esete. *Orvosi Hetilap*, 39:1-10.
- Nguyen-Nielsen M, Wang L, Pedersen L, Olesen AB, Hou J, Mackey H, McCusker M, Basset-Seguin N, Fryzek J, Vyberg M. 2015. The incidence of metastatic basal cell carcinoma (mBCC) in Denmark, 1997-2010. *Eur J Dermatol*, 25 (5):463-468.
- Nishioka A, Ogawa Y, Inomata T, Maeda T, Seguchi H. 1993. Fibronectin expression in cancer tissues from patients undergoing radiation therapy. *Histol Histopathol*, 8 (3):457-462.
- Papanikolaou S, Bravou V, Gyftopoulos K, Nakas D, Repanti M, Papadaki H. 2010. ILK expression in human basal cell carcinoma correlates with epithelial-mesenchymal transition markers and tumour invasion. *Histopathology*, 56 (6):799-809.
- Patel SS, Cliff SH, Ward Booth P. 2013. Incomplete removal of basal cell carcinoma: what is the value of further surgery? *Oral and Maxillofacial Surgery*, 17 (2):115-118.
- Peterson SC, Eberl M, Vagnozzi AN, Belkadi A, Veniaminova NA, Verhaegen ME, Bichakjian CK, Ward NL, Dlugosz AA, Wong SY. 2015. Basal cell carcinoma preferentially arises from stem cells within hair follicle and mechanosensory niches. *Cell Stem Cell*, 16 (4):400-412.
- Petres J, Rompel R. 2008. *Operative Dermatologie: Lehrbuch und Atlas*. Springer Berlin Heidelberg.
- Pilloni L, Bianco P, Manieli C, Senes G, Coni P, Atzori L, Aste N, Faa G. 2009. Immunoreactivity for alpha-smooth muscle actin characterizes a potentially

- aggressive subgroup of little basal cell carcinomas. *European Journal of Histochemistry*, 53 (2):113-116.
- Pizarro A, Benito N, Navarro P, Palacios J, Cano A, Quintanilla M, Contreras F, Gamallo C. 1994. E-cadherin expression in basal cell carcinoma. *British Journal of Cancer*, 69 (1):157-162.
- Reifenberger J, Ruzicka T. 2005. Basalzellkarzinom. In: Braun-Falco O, Plewig G, Wolff H, Burgdorf WC, Landthaler M, Hrsg. *Dermatologie und Venerologie*. Springer Berlin Heidelberg, 1250-1259.
- Reifenberger J, Wolter M, Knobbe CB, Kohler B, Schonicke A, Scharwachter C, Kumar K, Blaschke B, Ruzicka T, Reifenberger G. 2005. Somatic mutations in the PTCH, SMOH, SUFUH and TP53 genes in sporadic basal cell carcinomas. *Br J Dermatol*, 152 (1):43-51.
- Rene C. 2013. Oculoplastic aspects of ocular oncology. *Eye (Lond)*, 27 (2):199-207.
- Rhim AD, Oberstein PE, Thomas DH, Mirek ET, Palermo CF, Sastra SA, Dekleva EN, Saunders T, Becerra CP, Tattersall IW, Westphalen CB, Kitajewski J, Fernandez-Barrena MG, Fernandez-Zapico ME, Iacobuzio-Donahue C, Olive KP, Stanger BZ. 2014. Stromal elements act to restrain, rather than support, pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Cell*, 25 (6):735-747.
- Rippey JJ. 1998. Why classify basal cell carcinomas? *Histopathology*, 32 (5):393-398.
- Roewert-Huber J, Lange-Asschenfeldt B, Stockfleth E, Kerl H. 2007. Epidemiology and aetiology of basal cell carcinoma. *British Journal of Dermatology*, 157:47-51.
- Sasaki K, Murakami T, Kawasaki M, Takahashi M. 1987. The cell cycle associated change of the Ki-67 reactive nuclear antigen expression. *J Cell Physiol*, 133 (3):579-584.
- Scalvenzi M, Lembo S, Francia MG, Balato A. 2008. Dermoscopic patterns of superficial basal cell carcinoma. *Int J Dermatol*, 47 (10):1015-1018.
- Scanlon CS, Van Tubergen EA, Inglehart RC, D'Silva NJ. 2013. Biomarkers of Epithelial-Mesenchymal Transition in Squamous Cell Carcinoma. *Journal of Dental Research*, 92 (2):114-121.
- Schipper JH, Frixen UH, Behrens J, Unger A, Jahnke K, Birchmeier W. 1991. E-cadherin expression in squamous cell carcinomas of head and neck: inverse correlation with tumor dedifferentiation and lymph node metastasis. *Cancer*

- Res, 51 (23 Pt 1):6328-6337.
- Scholzen T, Gerdes J. 2000. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol*, 182 (3):311-322.
- Schubert J. 2000. Basaliome. *Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie*, 4 (1):S169-S176.
- Sellheyer K. 2011. Basalzellkarzinom und Stammzellmarker. *Der Hautarzt*, 62 (2):119-127.
- Sexton M, Jones DB, Maloney ME. 1990. Histologic pattern analysis of basal cell carcinoma. Study of a series of 1039 consecutive neoplasms. *J Am Acad Dermatol*, 23 (6 Pt 1):1118-1126.
- Shirahama T. 2000. Cyclooxygenase-2 expression is up-regulated in transitional cell carcinoma and its preneoplastic lesions in the human urinary bladder. *Clin Cancer Res*, 6 (6):2424-2430.
- Sigurdsson H, Agnarsson BA. 1998. Basal cell carcinoma of the eyelid. Risk of recurrence according to adequacy of surgical margins. *Acta Ophthalmol Scand*, 76:477-480.
- Sommer F. 2008. Tumorchirurgie der Lider – Operationsindikation und Möglichkeiten der Defektdeckung. *Klin Monatsbl Augenheilkd*, 225 (08):691-698.
- Sonntag M, Reifenberger J, Megahed M, Schulte KW. 2004. Ulcus terebrans. *Der Hautarzt*, 55 (10):983-985.
- Spraul CW, Ahr WM, Lang GK. 2000. Charakterisierung von 141 periokulären Primärbasaliomen und ihre Rezidivhäufigkeit nach chirurgischer Exzision. *Klin Monatsbl Augenheilkd*, 217 (04(217)):207-214.
- Steffens S, Schrader AJ, Vetter G, Eggers H, Blasig H, Becker J, Kuczyk MA, Serth J. 2012. Fibronectin 1 protein expression in clear cell renal cell carcinoma. *Oncol Lett*, 3 (4):787-790.
- Taylor G, Lehrer MS, Jensen PJ, Sun T-T, Lavker RM. 2000. Involvement of Follicular Stem Cells in Forming Not Only the Follicle but Also the Epidermis. *Cell*, 102 (4):451-461.
- Telfer NR, Colver GB, Morton CA. 2008. Guidelines for the management of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol*, 159 (1):35-48.
- Teltzrow T. 2010. Chirurgisches Vorgehen bei malignen Hauttumoren im Gesicht. *Der MKG-Chirurg*, 3 (1):63-76.
- Tilli CMLJ, Van Steensel MAM, Krekels GAM, Neumann HAM, Ramaekers FCS.

2005. Molecular aetiology and pathogenesis of basal cell carcinoma. *British Journal of Dermatology*, 152 (6):1108-1124.
- Tripp CS, Blomme EA, Chinn KS, Hardy MM, LaCelle P, Pentland AP. 2003. Epidermal COX-2 induction following ultraviolet irradiation: suggested mechanism for the role of COX-2 inhibition in photoprotection. *J Invest Dermatol*, 121 (4):853-861.
- Tsujino T, Seshimo I, Yamamoto H, Ngan CY, Ezumi K, Takemasa I, Ikeda M, Sekimoto M, Matsuura N, Monden M. 2007. Stromal myofibroblasts predict disease recurrence for colorectal cancer. *Clin Cancer Res*, 13 (7):2082-2090.
- Tsukita S. 1993. [Regulation of cadherin-based cell adhesion and metastasis]. *Gan To Kagaku Ryoho*, 20 (3):348-352.
- Urban J, Kuźbicki Ł, Szatkowski G, Stanek-Widera A, Lange D, Chwiot BW. 2014. Stromal, rather than epithelial cyclooxygenase-2 (COX-2) expression is associated with overall survival of breast cancer patients. *BMC Cancer*, 14:732.
- Vanjaka-Rogosic L, Puizina-Ivic N, Miric L, Rogosic V, Kuzmic-Prusac I, Babic MS, Vukovic D, Mardesic S. 2014. Matrix metalloproteinases and E-cadherin immunoreactivity in different basal cell carcinoma histological types. *Acta Histochem*, 116 (5):688-693.
- Walling HW, Fosko SW, Geraminejad PA, Whitaker DC, Arpey CJ. 2004. Aggressive basal cell carcinoma: presentation, pathogenesis, and management. *Cancer Metastasis Rev*, 23 (3-4):389-402.
- Weinstein MC, Brodell RT, Bordeaux J, Honda K. 2012. The art and science of surgical margins for the dermatopathologist. *Am J Dermatopathol*, 34 (7):737-745.
- Welsch MJ, Troiani BM, Hale L, DeTondo J, Helm KF, Clarke LE. 2012. Basal cell carcinoma characteristics as predictors of depth of invasion. *J Am Acad Dermatol*, 67 (1):47-53.
- Weymayr C. 2016. Krebsfrüherkennung: Vom Insistieren zum Informieren. *Dtsch Arztebl International*, 113 (7):276-281.
- Wu A, Sun MT, Huilgol SC, Madge S, Selva D. 2014. Histological subtypes of periocular basal cell carcinoma. *Clin Experiment Ophthalmol*, 42 (7):603-676
- Wu S, Han J, Li WQ, Li T, Qureshi AA. 2013. Basal-cell carcinoma incidence and associated risk factors in U.S. women and men. *Am J Epidemiol*, 178 (6):890-

897.

- Yamashita M, Ogawa T, Zhang X, Hanamura N, Kashikura Y, Takamura M, Yoneda M, Shiraishi T. 2012. Role of stromal myofibroblasts in invasive breast cancer: stromal expression of alpha-smooth muscle actin correlates with worse clinical outcome. *Breast Cancer*, 19 (2):170-176.
- Yang Z, Zhang X, Gang H, Li X, Li Z, Wang T, Han J, Luo T, Wen F, Wu X. 2007. Up-regulation of gastric cancer cell invasion by Twist is accompanied by N-cadherin and fibronectin expression. *Biochem Biophys Res Commun*, 358 (3):925-930.
- Yerebakan Ö, Çiftçioglu MA, Akkaya BK, Yilmaz E. 2003. Prognostic Value of Ki-67, CD31 and Epidermal Growth Factor Receptor Expression in Basal Cell Carcinoma. *The Journal of Dermatology*, 30 (1):33-41.
- Yin VT, Pfeiffer ML, Esmaeli B. 2013. Targeted Therapy for Orbital and Periocular Basal Cell Carcinoma and Squamous Cell Carcinoma. *Ophthalmic plastic and reconstructive surgery*, 29 (2):87-92.
- Zhan P, Qian Q, Yu LK. 2013. Prognostic value of COX-2 expression in patients with non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Thorac Dis*, 5 (1):40-47.
- Zimmermann AC, Klauß V. 2001. Prädiktoren für Basaliomrezidive der Augenlider und der periorbitalen Region. *Der Ophthalmologe*, 98 (6):555-559.

9. Anhang

9.1 Danksagung

Ohne die Mithilfe und Unterstützung der nachstehenden Personen wäre die Fertigstellung der vorliegenden Dissertation nur schwer realisierbar gewesen.

Mein Dank gilt zunächst Herrn Prof. Dr. Meller für die Betreuung dieser Arbeit. Für die Überlassung des Themas und der Ideengebung danke ich Herrn Prof. Dr. Blum.

Desweiteren möchte ich Prof. Dr. Kosmehl und dem Institut für Pathologie des HELIOS Klinikums Erfurt danken, die durch die Bereitstellung von Material, Zeit und Rat die Erstellung dieser Arbeit bereicherten.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. Lieder, die mich mit ihrer freundlichen Hilfe und konstruktiven Kritik den ganzen Weg begleitete und das Gelingen der Promotion voranbrachte.

Für die mehrfache Durchsicht, Korrektur und Ermutigung danke ich meinen Eltern sowie meinen Freunden Alexandros Moschovas und Ulrike Mascher. „Ich kann Euch nichts als Dank hierauf erwidern, Und Dank, und immer Dank“ (William Shakespeare, Was ihr wollt).

9.2 Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich- Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Prof. Dr. Daniel Meller, Prof. Dr. Marcus Blum, Dr. Angelika Lieder, Univ.-Prof. Dr. Hartwig Kosmehl, Alexandros Moschovas,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Ort, Datum

Unterschrift des Verfassers

